



Max-Planck-Institut
für Hirnforschung



Technische Universität
Darmstadt

Neuroanatomische Untersuchungen zur intrinsischen Konnektivität im Motorkortex des Menschen

vom Fachbereich Biologie der
Technischen Universität Darmstadt
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doctor rerum naturalium
genehmigte Dissertation von

Klaus v. Wangenheim
aus Frankfurt am Main

1. Referent: Prof. Dr. med. Ralf A.W. Galuske
2. Referent: Prof. Dr. rer. medic. Josef Wiemeyer

Tag der Einreichung: 5.2.2013
Tag der mündlichen Prüfung: 27.3.2013
Darmstadt 2013
D17

*Meinem Großvater
Richard Bergmann
gewidmet*

*der 1970 für meine Promotion
300 DM sparte*

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	8
Zusammenfassung.....	9
1. Einführung.....	11
1.1. Die traditionellen Vorstellungen zum Motorkortex	12
1.2. Die Verbindungsstrukturen des Motorkortex	14
1.3. Der Aufbau der motorischen Großhirnrinde	18
1.4. Entwicklung einer modernen Motorkortexkonzeption.....	20
1.5. Die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen.....	26
2. Material und Methoden.....	30
2.1. Gewebe	30
2.2. Methoden	32
2.2.1. Fixierung.....	32
2.2.2. Färbung	32
2.2.3. Herstellung der Gewebeschnitte	37
2.3. Auswertungen.....	39
2.3.1. Mikroskop, Kamera, Software.....	39
2.3.2. Lichtmikroskopische Auswertung	40
2.3.3. Patch-Definition	41
2.3.4. Patchgrößen	43
2.3.5. Dendriten und Boutons.....	43
2.3.6. Abschätzung der Injektionstiefe des Dil-Kristalls.....	44
2.3.7. Datenbearbeitung	46
2.3.8. Statistische Bearbeitung und Auswertung.....	49
3. Ergebnisse.....	57
3.1. Übersicht: Die intrinsische Konnektivität im Motorkortex.....	57
3.2. Das horizontale Erscheinungsbild der intrinsischen Verbindungen	57
3.2.1. Zellverteilung.....	61
3.2.2. Patches	63
3.3. Die Schichtzuordnung, das vertikale Erscheinungsbild	64
3.4. Analyse des Erscheinungsbildes des intrinsischen Netzwerkes	66
3.4.1. Die Neuronengruppen (Patches)	72
3.4.2. Die Dendritenfelder.....	76

3.4.3. Die Asymmetrie des Netzwerkes	78
3.4.4. Die Konnektivität im Netzwerk	82
3.5. Der prämotorische Kortex	89
3.5.1. Das Erscheinungsbild der intrinsischen Verbindungen	90
3.5.2. Analyse der Zellverteilung	93
3.5.3. Patches	99
3.5.4. Dendriten	101
3.5.5. Boutondichten	105
3.5.6. Vergleich von M1 und prämotorischem Kortex	107
3.6. Die Verbindungen zum somatosensorischen Kortex	110
4. Diskussion	115
4.1. Übersicht: Methodologische Überlegungen und Zusammenfassung	115
4.2. Einordnung in die bisherigen Erkenntnisse	117
4.2.1. Das Netzwerk	117
4.2.2. Die Patches	123
4.3. Vergleich mit sensorischen und homotypischen Arealen	128
4.3.1. Zellzahlen in den Arealen und Zelldichte	129
4.3.2. Die Reichweiten der intrinsischen Verbindungen	132
4.3.3. Patches - Patchgrößen	134
4.3.4. Boutons und Konnektivität	135
4.3.5. Zusammenschau der Vergleiche	136
4.4. Sind die Patches eine modifizierte Funktionskolumne?	139
4.5. Skizze: Suche nach einer Motorkortexkonzeption	143
4.6. Feuerraten der Neurone und Populationsantworten	146
4.7. Ineinander verwobene Netzwerke	149
4.8. Die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen	153
4.9. Wissenschaft und Erkenntnis	157
5. Schlussfolgerung	159
6. Ausblick	160
7. ANHANG I zum Text	165
Anhang 12: Verbindungsstruktur der Basalganglien	166
Anhang 27: „Pianomodelle“ des Motorkortex	167
Anhang 32: Zuordnung der Gewebekennzeichnungen zu den Sektionsnummern...	167

Anhang 33: Einsatzbedingungen für Dil und Begründungskontext	168
Anhang 35: Nissl-Färbung	172
Anhang 37: Mikroskoparbeitsplätze	173
Anhang 42: Ermittlung der Koordinaten im eingeebneten Kortex.....	174
Anhang 43: Ermittlung der Kortexschichtendicke des Motorkortex	178
Anhang 44: Shollringbreitenvergleiche.....	179
Anhang 45: Übersicht über die M1-Arealnachweise der Gewebe	182
Anhang 46: Die Tiefenverteilung der Zellen in dem Gewebe P2	182
Anhang 47: Patchdurchmesser und Flächeninhalte	183
Anhang 48: Bilder zweier benachbarter Patches.....	184
Anhang 49: Zeichnungen des Auswahlpatches.....	186
Anhang 50: Varianz der Durchmesser und Flächen in einer Patchgewebesäule	187
Anhang 51: Volumenberechnung von Patches.....	188
Anhang 52: Datentabelle zum Vergleich von Patches und Dendritenfeldern	191
Anhang 54: Boutondichte (M1).....	192
Anhang 55: Boutondichte in M1	193
Anhang 56: Kortexschichtdicken.....	194
Anhang 57: Volumina einzelner Patchsäulen (prämotorischen Kortex).....	194
Anhang 58: Zeichnungen von Dendritenfeldern.....	196
Anhang 59: Boutondichte, Datentabelle	199
Anhang 79: Modelle des Motorkortex.....	201
8. Literaturverzeichnis	205
9. Anhang II.....	223
9.1. Abbildungsverzeichnis	223
9.2. Tabellenverzeichnis.....	225
9.3. Abkürzungsverzeichnis.....	226
9.4. Digitaler Anhang II (CD).....	226
10. Lebenslauf	227
Danksagungen	228
Ehrenwörtliche Erklärung.....	230

Vorwort

Die Arbeit wurde 2001 am Ende meines Sabbatjahres als Lehrer im Max-Planck-Institut für Hirnforschung (Deutschordenstr. 46, 60528 Frankfurt am Main) auf eine Anregung von Herrn Prof. Dr. Galuske begonnen, 2003 in Göttingen¹ durch ein Poster vorgestellt, seit 2008 als Dissertation weitergeführt und die Ergebnisse quantitativ abgesichert. In den Jahren dazwischen ließ sich die parallele Tätigkeit von Schule und Forschung nicht miteinander vereinbaren. Nach dem Ausscheiden aus dem Schuldienst konnte ich die wissenschaftliche Tätigkeit dankenswerter Weise fortsetzen.

Lesehinweise

Die direkten Literaturbezüge habe ich wie üblich in den Text übernommen (Autor, Jahreszahl), entsprechend der durch das Literaturmanagementprogramm ENDNOTE vorgegebenen Form, mir notwendig erscheinende Erläuterungen, Zitate und Seitenhinweise, sofern sie als Beleg dienen, in die Fußnoten. Alle ergänzenden Informationen, die nicht unmittelbar dem Gedankengang und Verständnis des Inhaltes dienen, finden sich im Anhang, dessen Nummerierung den jeweilig verweisenden Fußnoten zugeordnet ist. Abbildungen und Tabellen sind fortlaufend nummeriert. Umfangreiche Datenquellen befinden sich im digitalen Anhang.

¹ The Neurosciences from Basic Research to Therapy. Proceedings of the 29th Göttingen Neurobiology Conference and the 5th Meeting of the German Neuroscience Society 2003

Zusammenfassung

Der Motorkortex war das erste Hirnareal, das experimentell getestet wurde und damit der Lokalisationstheorie zum Durchbruch verhalf. Dem Motorkortex wurde die Aufgabe der Muskelsteuerung zugeschrieben, indem benachbarte Neuronenbezirke über das Rückenmark benachbarte Muskeln innervieren. Die somatotopie Repräsentanz des Körpers im Gehirn war geboren und diente hundert Jahre als Vorlage für die Neurowissenschaftler. Zwei methodische Neuerungen leiteten eine neue Ära ein:

- die intrakortikale Mikrostimulation (für die Physiologen), die es erlaubte, direkt Neurone zu reizen bzw. ihre Aktivität abzuleiten und damit sehr viel näher an die Geschehnisse im Gehirn zu gelangen.
- der Einsatz neuer Fluoreszenz- und anderer Farbstoffe (für die Anatomen), die es erlaubten, feinste Zellverästelungen anzuzeigen und damit dem tatsächlich vorhandenen Verbindungsdickicht auf die Spur zu kommen.

Anfang der neunziger Jahre des vorigen Jahrhunderts wurde immer deutlicher, dass das somatotopie Konzept zwar hilfreich war, sich aber in seinen einfachen Varianten als unzutreffend erwies. Die zentralen Befunde waren die mehrfache Repräsentanz von Körperteilen, insbesondere der Hände, und das weitreichende Netzwerk intrinsischer Verbindungen im Motorkortex. Verschiedene Steuerzentralen für die gleichen Körperteile und weitgestreute Informationen der einzelnen Neurone unterliefen die Vorstellung von der Koordination benachbarter Neuronengruppen und erforderten neue Konzepte.

An dieser Stelle entstand das Thema dieser Arbeit. Durch Injektion des lipophilen Fluoreszenzfarbstoffs Dioktadezyltetramethylindokarbozyanin Perchlorat (DiI) in den primären Motorkortex konnte das intrinsische Netzwerk aller Neurone angefärbt werden, die mit dem Kristall Kontakt hatten. Die am weitesten entfernten Neurone fanden sich in den Schichten II oder III bis zu einer Entfernung von 12 mm vom Injektionsmittelpunkt. Die Färbungen wiesen zwei Netzwerke aus: in den (supragranulären) Schichten II und III in einer auch quantitativ belegbaren Dichte und in den (infragranulären) Schichten V und VI als qualitativer Nachweis. Drei Zonen sind unterscheidbar: eine Zone dichter, gefärbter Strukturen bis zu einem Abstand von etwa 3 mm, eine Zone von unterscheidbaren Patchen, die rund um die Injektionsstelle liegen bis ca. 6 mm und einen peripheren Bereich, in dem einzelne Patche und gefärbte Strukturen verstreut bis zu 12 mm Abstand vorliegen. In Vertikalschnitten konnte zwischen den supra- und infragranulären Netzwerken eine dünne Zwischenschicht ohne oder mit nur wenigen gefärbten Zellen und Zellstrukturen (in Höhe von Schicht IV) festgestellt werden. Schicht III trägt den Hauptteil der Neurone, die etwa zur Hälfte in Patchen zu finden sind. Als Patch werden gefärbte ellipsoide Gewebereiche mit einem Durchmesser von durchschnittlich rund 620 µm bezeichnet, deren Neuropil das Gebiet vom umliegenden ungefärbten Gewebe abhebt. Zellen, Patche und Axone sind asymmetrisch um die Injektionsstelle verteilt und zeigen eine anterior-posteriore Orientierungsbevorzugung. Die Konnektivität in diesen Netzwerken ist nicht auf die Terminalfelder beschränkt. Die Axone sind über ihre gesamte Länge mit Boutons en passant besetzt, in unterschiedlicher lokaler Dichte. Eine Korrelation mit der Entfernung konnte nicht festgestellt werden, wohl aber eine Korrelation mit der Kortextiefe. Die

höchsten Boutondichten fanden sind in den oberen Schichten insbesondere in der Schicht I, die niedrigsten in den unteren Schichten (Signifikanztest Kruskal-Wallis). Das lässt auf eine weite Streuung der Information innerhalb der eine Bewegung tragenden Körpergliedmaßen und auf eine intensive vertikale Informationskoordination schließen.

Diese Ergebnisse ergänzen stimmig die bei Säugern vorliegenden Daten. Sie wurden in einer vergleichenden Betrachtung input- und output-orientierter Areale mit den hohen Koordinationsanforderungen im Motorkortex und der daraus resultierenden Rindendicke und Verbindungsdichte korreliert. Dabei wurde deutlich, dass es derzeit keine stimmige neue Konzeption der Informationskodierung und –prozessierung im Motorkortex gibt. In Hinblick auf das anatomische Bild wurde eine Strukturierung ähnlich den „Small-world“-Netzwerken favorisiert, da das kolumnäre Hirnmodell, also die Vorstellung abgrenzbarer Funktionsmodule, nicht mehr begründet aufrecht erhalten werden kann. Die Vorstellung ineinander verwobener distributiver intrinsischer Netzwerke passt andererseits leidlich gut zu den Untersuchungen und Theorien interaktiver Neuronenpopulationen, deren Verarbeitungsalgorithmen bisher nicht aufgeklärt werden konnten, die aber gleichwohl über präzise Synchronisierungen innerhalb interaktiver Kommunikationsnetze nachweisbar agieren.

Ergänzend wurden Gewebe des prämotorischen und somatosensorischen Kortex untersucht. Die zytoarchitektonischen Unterschiede der Areale spiegeln sich nicht in hier feststellbaren Verbindungsunterschieden im intrinsischen Netzwerk wider. Die Patches im somatosensorischen Kortex scheinen klarer als im Motorkortex abgegrenzt zu sein. Die Verbindungsreichweiten liegen im somatosensorischen Kortex bei 10 mm, im prämotorischen Kortex bei 12 mm und damit in der Größenordnung der Reichweiten im primären Motorkortex. Bei den übrigen Kennzahlen weist der prämotorische Kortex etwas kleinere Dimensionen auf: Kleinere Patches und Dendritenfelder, weniger verzweigte Dendritenäste (bei etwas stärkerer Verzweigung, aber auch nennenswerten unverzweigten Dendritenästen) und geringere Boutondichten. Diese Aussagen stehen unter dem Vorbehalt als Einzelergebnisse keine allgemeine Gültigkeit zu haben.

1. Einführung

In unserer Alltagssprache zeigt sich die Bedeutung des Motorkortex als Quelle unseres bewussten Handelns in seiner gesamten Komplexität: wir begreifen etwas, wir verstehen nicht oder ergehen uns in langatmigen Ausführungen. Bewegung und Kognition verbindet unser Alltagsbewusstsein in den doppeldeutigen Begriffen aufs innigste.

Die Bewegung des Greifens und das Erfassen von Zusammenhängen sind nicht voneinander zu trennen, Greifen, die Herstellung einer körperlichen Verbindung zur Umwelt, und Kognition, die Repräsentanzen von Objekten und deren Beziehungen in unserem Bewusstsein, sind eng aufeinander bezogen. Wenn wir uns vergegenwärtigen, dass unser Verhalten das entscheidende Glied in der Kommunikation mit der Umwelt ist, wird die Bedeutung der motorischen Steuerung deutlich. Unsere Sinne rufen Eindrücke der Umwelt und unseres Körpers in uns hervor, unser Bewusstsein nimmt teil an der Zuschreibung von Bedeutungen zu diesen Wahrnehmungen, aber nur über unsere motorischen Aktivitäten können wir wiederum auf unsere Umwelt zu-„greifen“, sie verändern und uns mitteilen. „Locked-in“-Patienten erleben einen qualvollen Zustand, bei vollem Bewusstsein unfähig zu sein, sich anderen mitzuteilen. Der Film „Schmetterling und Taucherglocke“² hat diese Situation gut nachvollziehbar eingefangen und die spärlichen Kommunikationsmöglichkeiten über die Augenbewegungen aufgezeigt (s.a. (Fuchs 2010))³.

Da unsere kognitiven Möglichkeiten eng mit unseren motorischen Aktivitäten verbunden sind, ist die Frage, ob letztere die Struktur des Verstehens bestimmen, nicht trivial (Olivier, Davare et al. 2007). Fortschritte in der anatomischen und funktionellen Strukturaufklärung haben daher auch das Verständnis und die Modellvorstellung vom Motorkortex verändert. Je genauer die Hirnforscher unseren Gedanken auf die Spur zu kommen suchen, umso komplexer, differenzierter und tiefgründiger werden die entdeckten und noch aufzuklärenden neuronalen Zusammenhänge, deren interne Struktur für das funktionelle Zusammenspiel immer relevanter wird. Dabei wird deutlich, wie sehr unser körperliches In-Beziehung-bringen als kognitive Vorlage dient, in welchen Bildern bzw. Metaphern sich unser Denken vollzieht (Huber 2001).

In diesen Bildern ist ein radikaler Wandel festzustellen, wie der Motorkortex in Struktur und Funktion zu sehen und zu verstehen ist. Hundert Jahre lang war die Vorstellung vom Greifen und Begreifen von mechanischen und hierarchischen Vorstellungen geprägt. Seit der Beschäftigung mit komplexen Systemen nehmen ganz andere Modelle den Bilderraum der wissenschaftlichen Vorstellungen ein: von Netzwerken mit Fuzzy-Logik⁴ (Prochazka 1996), von den ins Chaos eingebetteten geordneten Feldern (Briggs and Peat 1990, Gerok 1990, Waldrop 1996), von Vorstellungen „alles-ist-mit-allem“ verbunden und der Taifun-Auslösung durch einen Schmetterlingsflügelschlag (hier schimmert noch die

² „Schmetterling und Taucherglocke“ ist ein Film von Regisseur Julian Schnabel (2007) nach dem gleichnamigen, autobiografischen Roman von Jean-Dominique Bauby, der mit 42 Jahren einen Gehirnschlag erlitt und seine Biographie Buchstabe für Buchstabe durch das Blinzeln eines Auges diktierte.

³ s.a. Wikipedia: Motorkortex

⁴ Fuzzy-Logik (fuzzy = unbestimmt, unscharf, verschwommen) beschreibt den mathematischen Umgang mit Unschärfen.

alte Logik durch, die nach einer bestimmten Ursache sucht) bis hin zu den neueren Diskussionen um mathematische Simulationsmodelle (s.a. „small-world-Netzwerke“, Kap. 4.8.). Der Motorkortex wird mit einem „Synthesizer“ oder mit einem „Logistikunternehmen“ verglichen (Capaday 2004). Diese Begriffe signalisieren diesen Wandel der Vorstellungen, die bislang eher von einer „Befehlszentrale“ sprachen. Dieses Bild war zunehmend in die Kritik geraten, weil es der Komplexität anatomischer Verbindungsstrukturen und den flexiblen Funktionsleistungen nicht mehr gerecht werden konnte. In diesem Kontext wurden die internen, intrakortikalen Strukturen des Motorkortex bedeutsam, die zur Fragestellung der vorliegenden Arbeit führten:

Über welche intrinsischen Verbindungsstrukturen verfügt der primäre Motorkortex (M1) des Menschen als neuronaler Träger seiner vielfältigen Funktionen und Aufgaben.

1.1. Die traditionellen Vorstellungen zum Motorkortex

Die Vorstellung der Arbeitsweise des Motorkortex wurde im letzten Drittel des 19. Jahrhunderts auf eine neue, wissenschaftlich fundierte Basis gestellt. Broca hatte in seinen Veröffentlichungen (Broca 1861) die funktionelle Spezialisierung bestimmter Hirnregionen formuliert (Brocazentrum) und damit der Idee der Muskelsteuerung durch lokal abgrenzbare Hirnbezirke zum Durchbruch verholfen (Düweke 2001). Gustav Theodor Fritsch und Eduard Hitzig konnten dann 1870 die Somatotopik⁵ des Motorkortex an Hunden durch elektrische Hirnreizung nachweisen (Fritsch and Hitzig 1870) und David Ferrier bestätigte sie 1873 an Affen (Ferrier 1873). John Hughlings Jackson, auf den sich Ferrier bezieht und der in der aktuellen Diskussion um die Motorkortexnetzwerke in Erinnerung gerufen wird (Schieber 2001, Capaday 2004), konnte im gleichen Jahr durch sehr genaue

Beobachtungen seiner epileptischen Patienten die Somatotopik auch beim Menschen aufzeigen (Jackson 1873)⁶. Diese tritt in den nach ihm benannten fokalen (Jackson-)Anfällen dadurch hervor, dass die Muskelzuckungen langsam über eine Gliedmaße laufen. Sie wurden benachbarten Orten im Motorkortex zugeordnet. Die funktionelle Spezialisierung wurde durch die anatomische ergänzt, indem es Korbinian Brodmann (1868-1918) gelang, kortikale Regionen auch strukturell anhand der Zytoarchitektur zu unterscheiden (Abb. 1 (Brodmann 1909), s.a. (Hanser and Scholtyssek 2000)).

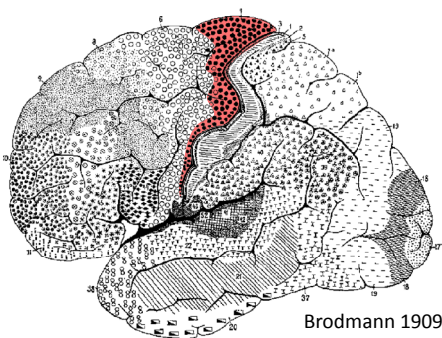


Abb. 1: Gehirnnareale nach Brodmann.

Der primäre Motorkortex (Brodmannareal (BA) 4) ist rot eingefärbt. Er dehnt sich im medialen Bereich bis zum Sulcusboden und nach anterior auch auf der Gyrusoberfläche aus.

Aus: Brodmann 1909, S. 131

Die Somatotopik des Motorkortex wurde Mitte des

⁵ Die die Muskeln steuernden Neurone zeigen in ihrer Lage im Motorkortex die Körperverhältnisse der Muskelanordnung (Somatotopik, griech.: Soma = Körper, Topos = der Ort).

⁶ Nachgewiesen hat Jackson diese Lokalisation in den Jahren 1861 und 1863, also vor Fritsch und Hitzig (Düweke 2001).

vorigen Jahrhunderts durch Wilder Penfield (1891-1976) genauer erkundet. Seinen intra-operativen elektrophysiologischen Untersuchungen an Epilepsiepatienten (Penfield and Rasmussen 1950) entsprangen die Bilder des unproportionierten Homunculus der motorischen Hirnrinde, die das besondere Differenzierungsmaß motorischer Geschicklichkeit und Varianz von Händen und Mundbereich (Sprechmuskulatur) des Menschen veranschaulicht (Abb. 2).

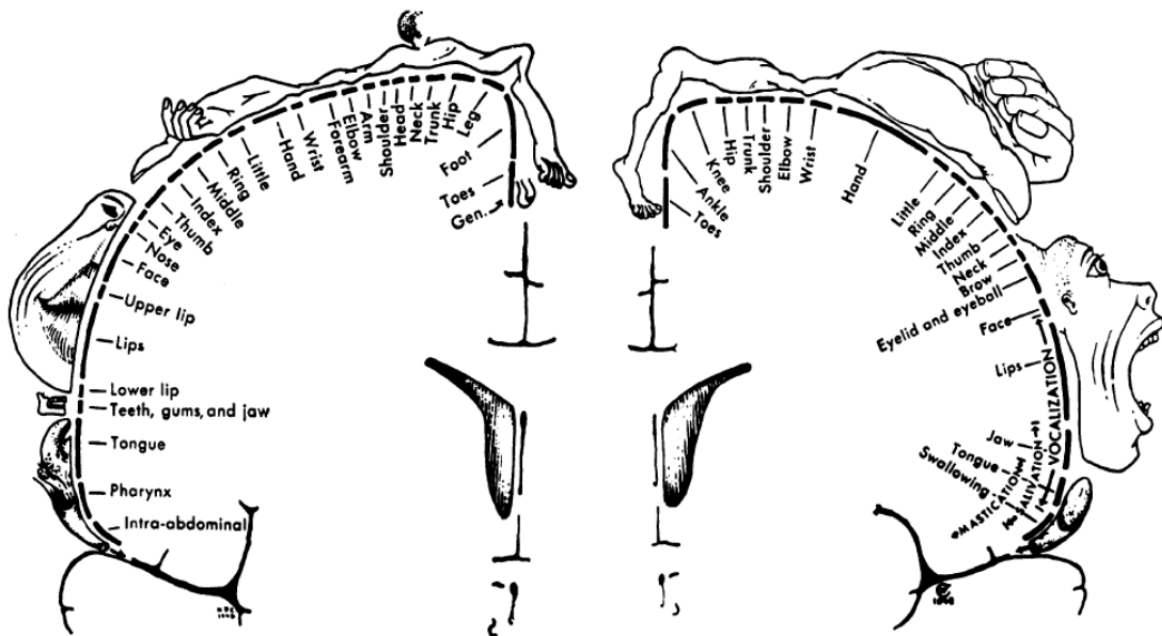
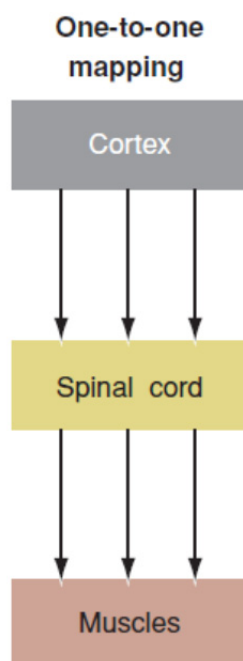


Abb. 2: Penfields Homunculus

Dargestellt sind Koronarschnittabbildungen der motorischen (rechts) und der sensorischen Rinde (links). Eingezeichnet sind die Rindenbereiche, die den jeweiligen Körperbereich steuern. Die Körperteile sind entsprechend der Größe der Rindenbereiche gezeichnet. Hände und Mundbereich sind überproportional innerviert und zeigen die feinmotorischen Fähigkeiten an. Es ergibt sich ein gegenüber den Körperproportionen verzerrtes Körperbild. Aus: Schott 1993, S. 330



Clinton Nathan Woolsey (1907 – 1972) bestätigte an Affen die Somatotopik des Motorkortex (Woolsey, Settlage et al. 1952). Sie wird in heutigen TMS⁷-Studien bis in einzelne Handmuskeln reproduziert (Wilson, Thickbroom et al. 1993, Beisteiner, Windischberger et al. 2001, Hlustik, Solodkin et al. 2001).

Der primäre Motorkortex (M1) wurde so zur zentralen Schaltstelle für die Koordination der Planung und Ausführung von Willkürbewegungen mit einer klaren hierarchischen 1 : 1-Beziehung zwischen steuernden Neuronenbereichen und Muskulatur (s. Abb. 3).

Abb. 3: Einfaches Motorkortexmodell.
Die Motorkortexbereiche wirken über die Spinalbahnen auf die Muskeln (1 : 1-Karte). Aus: (Graziano 2006) S. 124).

⁷ TMS: transkraniale Magnetstimulation

1.2. Die Verbindungsstrukturen des Motorkortex

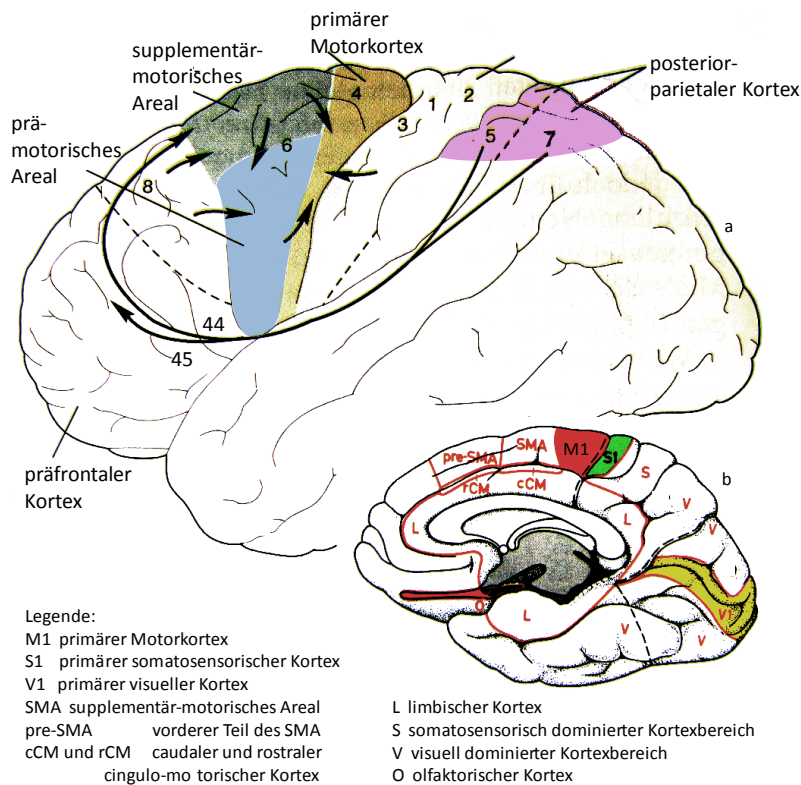


Abb. 4: Motorische Areale und ihre Verbindungen

a) Die oberste Steuerungsebene sind der primäre Motorkortex (BA 4) und die prämotorischen (BA 6, hellgrau), supplementärmotorischen (BA 6, dunkelgrau) und cingulären* motorischen Kortexregionen. Ihnen eng zugeordnet sind das Sprachzentrum (Brocazentrum, BA 44+45) und das frontale Augenfeld (BA 8). Die wichtigsten sensorischen Eingänge sind der primäre somatosensorische Kortex (BA 1-3) und die parietalen Augenfelder (BA 5+7).

Verändert aus: Kandel 1996, S. 546

* b) Mediobasalansicht. Die cingulären Regionen liegen am Grunde der Hemisphärenspalte.
Aus: Zilles 1998, S. A6

In der Tat ist der (primäre) Motorkortex Ausgangsort der Willkürmotorik, der von vielen anderen Hirnbe-reichen in dieser Funktion unterstützt wird bzw. auf sie angewiesen ist und mit denen er reziprok oder über Schaltkreise verbun-den ist (s. Abb. 4 u. 5).

Hier sind vor allem die in der humanen Evolution überproportional sich ver-größernden (Shepherd 2004)⁸ prämotorischen, supplementärmotorischen und cingulären motori-schen Kortexregionen (s. Abb. 4) (Matelli, Luppino et al. 1985, Matelli, Camarda et al. 1986, Barbas and Pandya 1987, Picard and Strick 1996, Vorobiev, Govoni et al. 1998, Dum and Strick 2005) zu nen-nen, die koordinierende

und planende Funktionen der Bewegungen ausführen und erfahrene und fiktive Bewe-gungsrepräsentationen übernehmen (z.B. (Kurata and Tanji 1986, Stephan, Binkofski et al. 1999, Hayden, Pearson et al. 2009, Pearson, Hayden et al. 2009). Zusammen mit dem primären Motorkortex bilden sie den motorischen Kortex als die hierarchisch höchste Steuerungsebene des motorischen Systems (Zilles and Rehkämper 1998³)⁹.

Dabei prägte zunächst eine klare hierarchische Beziehung zwischen den verarbeitenden und planenden prämotorischen Bereichen und dem die Bewegungen steuernden pri-mären Kortexareal das Modell (Keller and Asanuma 1993b, Graziano and Aflalo 2007). Der Motorkortex liegt im Frontallappen, der Zentralfurche benachbart, deren größten anteri-oren Teil der primäre Motorkortex (Area 4 nach Brodmann (BA 4)) einnimmt (Rademacher, Caviness et al. 1993, Stepniewska, Preuss et al. 1993, Geyer, Ledberg et al.

⁸ A.a.O. S. 499

⁹ A.a.O. S. 263

1996, Rademacher 2002)¹⁰. Über die Pyramidenbahnen steuert er die motorischen Kerngebiete im Hirnstamm (Einfluss auf und Unterstützung durch die Reflexmotorik) und die Motoneurone im Rückenmark. Dem motorischen Kortex benachbart liegen das frontale Augenfeld (BA 8) und das Brocazentrum (BA 44+45), motorische Areale für willkürliche Augenbewegungen (zur Übersicht s. (Heinzle, Hepp et al. 2007) und das Sprechen

(Gallese, Fadiga et al. 1996, Arbib and Bota 2003). Diese eng mit Wahrnehmung und Aufmerksamkeit sowie Kommunikation verbundenen Areale sind für das Greifen und Begreifen von essentieller Bedeutung (Olivier, Davare et al. 2007).

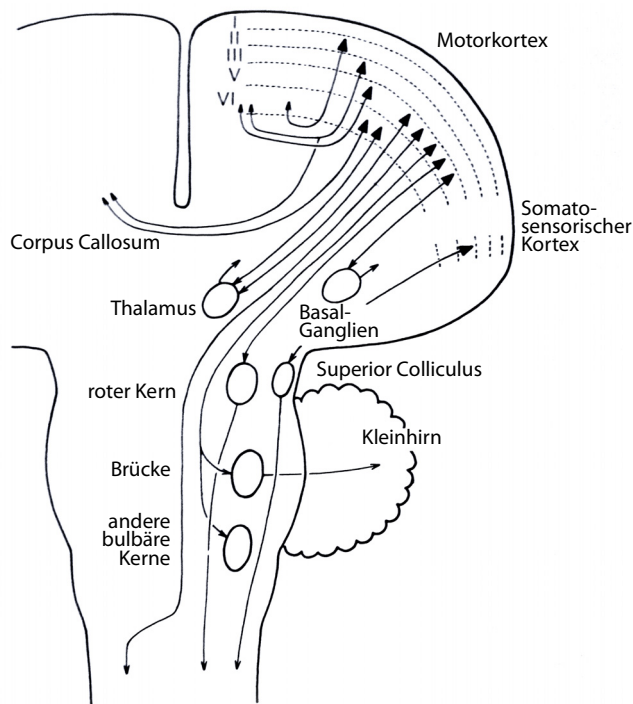


Abb. 5: Motorische Areale und ihre Verbindungen (2)

Die Grafik zeigt die Verbindung der Neurone (dicke schwarze Dreiecke) aus verschiedenen Schichten mit den supraspinalen Hirnbereichen. Die Rückkopplungsverbindungen sind nur von Thalamus und Basalganglien durch kurze Pfeile angedeutet, andere (z.B. aus dem Kleinhirn) sind nicht eingezeichnet. Aus: Shepherd 1988, S.443

Die Willkürmotorik ist eingebettet in die Motorik der Körperhaltung, die wiederum durch Reflexe stabilisiert wird. Hier sind vor allem die Basalganglien und das Kleinhirn (Cerebellum) zu nennen sowie einige Neuronengruppen des Hirnstamms (extrapyramidales System) (Jones and Wise 1977). Sie sind für die Geschmeidigkeit der Bewegungen nötig und sichern ihren zeitlich wohl koordinierten Ablauf durch Bearbeitung von Absicht, Erfolgseinschätzung und Ausführung von Bewegungen (Clower, Dum et al. 2005). Da

der Motorkortex auch diese Bereiche innerviert, erweisen sich pyramidales und extrapyramidales System als eng verflochten unter seiner kortikalen Kontrolle, deren Integration über die Tractus kortiko-, retikulo-, tekto-, vestibulo- und rubrospinalis und die gemeinsame motorische Endstrecke erfolgt (Zilles and Rehkämper 1998³)¹¹. Schädigungen der Pyramidenbahn führen zu Lähmungen, die des extrapyramidalen Systems zu Dystonien, also Beeinträchtigungen des Bewegungsablaufs durch mangelnde Koordination (Hanser and Scholtyssek 2000). Wird experimentell nur die Pyramidenbahn im Spinaltrakt geschä-

¹⁰ Der primäre Motorkortex des Menschen lässt sich in einen anterioren und einen posterioren Bereich (Area 4a und 4p) einteilen (Geyer 1996). Gründe dafür sind: doppelte Repräsentationen von Arm und Hand, getrennte Verbindungen zum somatosensorischen Kortex, zytoarchitektonische Unterschiede in Zell- und Schichtdichte, Unterschiede in den Neurotransmitter-Bindungsstellen und funktionelle Unterschiede (mit oder ohne somatosensorischen Input). S.a. Rademacher (2002) S.58ff, hier werden individuelle Grenzvariationen, insbesondere für die nicht offensichtlichen, sichtbaren Grenzen erörtert, die zu Fehlinterpretationen bei fMRT-Studien führen können.

¹¹ A.a.O. S. 299

dig (s. unteren roten Pfeilkopf in Abb. 6), sind die Einschränkungen bis auf die Fingerfertigkeit bei Affen minimal, die Bewegungssteuerung wird vom extrapyramidalen Strang über den Hirnstamm gewährleistet (Wicht 2006)¹².

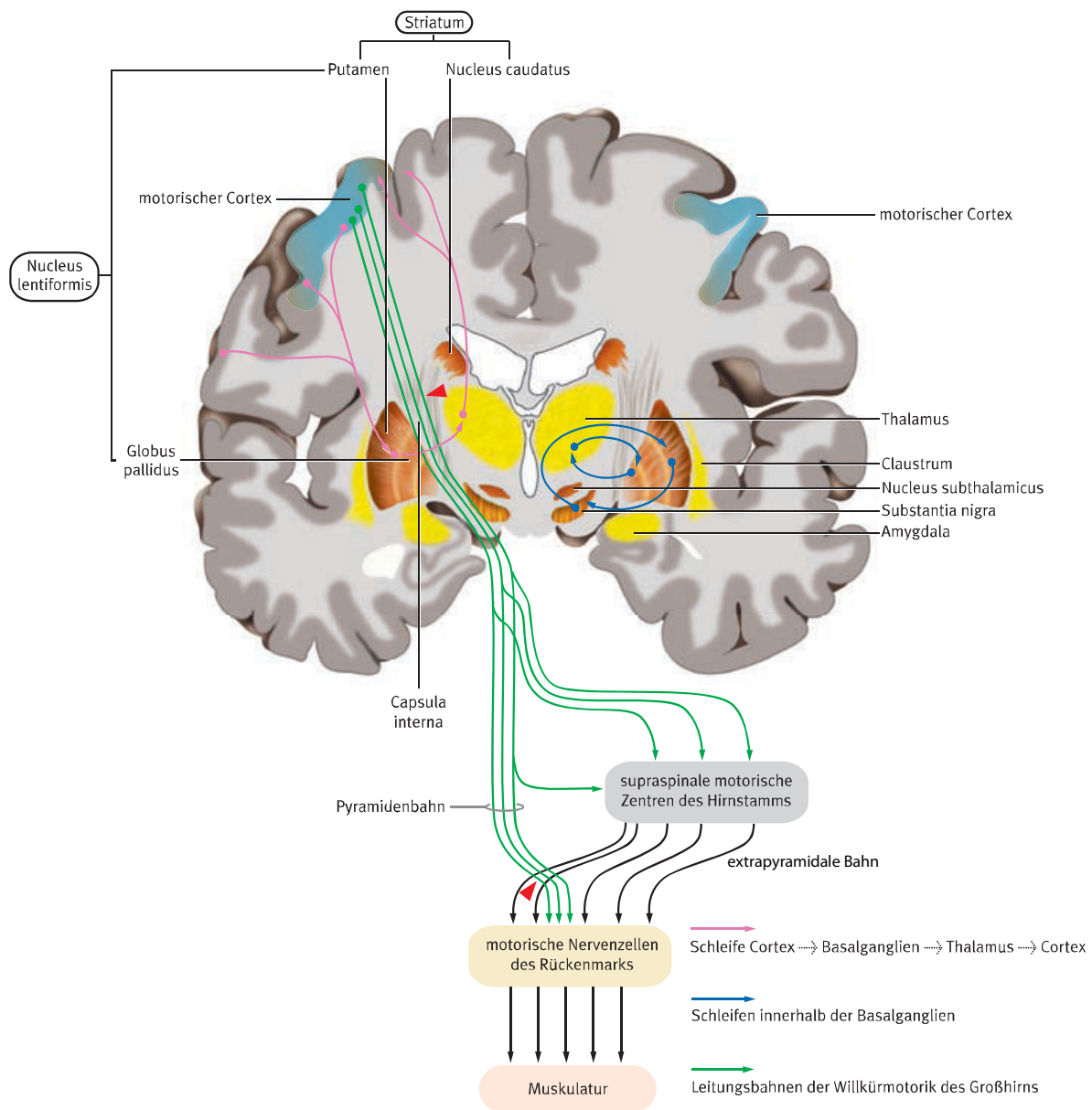


Abb. 6: Pyramidale und extrapyramidale Bahn

Die früher getrennt gedachten Bahnen stehen beide unter der Kontrolle des Motorkortex (grüne Bahn). Die „supraspinalen motorischen Zentren“ (graues Etikett) stehen für die im Gehirnschnitt markierten Bereiche der Basalganglien (braun) und anderer Hirnkerne (gelb). Die ihnen entspringenden Bahnen zum Rückenmark sind die extrapyramidalen Bahnen.

Die experimentelle Unterbrechung der Pyramidenbahn an ihrem Beginn (oberer roter Pfeilkopf) führt zu Lähmungen, die Unterbrechung vor Eintritt in den Spinalkanal jedoch zu nahezu keinen Beeinträchtigungen. Lediglich die Fingerfertigkeit ist beeinträchtigt. Die Bewegungen werden über die extrapyramidalen Bahnen gesteuert (Ergebnisse aus Affenversuchen). Verändert aus: Wicht 2006, S.69

Für das Gelingen der Willkürmotorik und ihrer prozessualen Kontrolle sind natürlich die permanenten sensorischen Eingänge wesentlich (s. Abb. 7), nicht nur der Somatosensorik

¹² S.a. Abb.5 und die Verbindungen der Basalganglien im Anhang 12.

(BA 1 – 3, taktile Rezeption, Stellung der Gelenke, Dehnung von Muskeln etc.) (Wong, Kwan et al. 1978), sondern z.B. auch der hinteren parietalen BA 5 und 7, die die räumliche Lage von Objekten zum Beobachter repräsentieren und dadurch die räumliche Koordination der Bewegungen ermöglichen¹³. Sie erhalten neben visuellen auch akustische und vestibuläre Informationen. Die Informationen aus den anderen Sinnesorganen gelangen noch über weitere Wege zum Motorkortex. Für die Integration dieser sensorischen Afferenzen scheinen interne Handlungsrepräsentationen des Motorkortex eine eminente Bedeutung zu spielen (Rizzolatti and Luppino 2001).

Bezieht man die motivationale Seite der Motorik noch mit ein, so sind Teile des limbischen Systems anzuführen. Daneben sind Areale des präfrontalen Kortex bei der Handlungsorganisation, Basalganglien bei Wahlentscheidungen und einige andere Bereiche eingebunden. Die Ebenen motorischer Aktivitäten lassen sich also einteilen in

- Ebene des Antriebs (Motivationsareale)
- Ebene der Handlungsplanung (assoziativer Kortex)
- Ebene der Bewegungsplanung (Basalganglien/Thalamus und Kleinhirn im Zusammenspiel mit supplementär- und prämotorischem Kortex)
- Ebene der Bewegungsinitiierung, supraspinal (primärer Motor-Kortex und Hirnstamm)
- Ebene der Aktivierung, spinal (spinale Neurone)
- Ebene der Aktivität (Muskeln)

Alle Ebenen sind durch Rückkopplungsverbindungen (feedback) gekennzeichnet. Graziano hat die Entwicklung in drei Modellen des Motorkortex zusammengefasst:

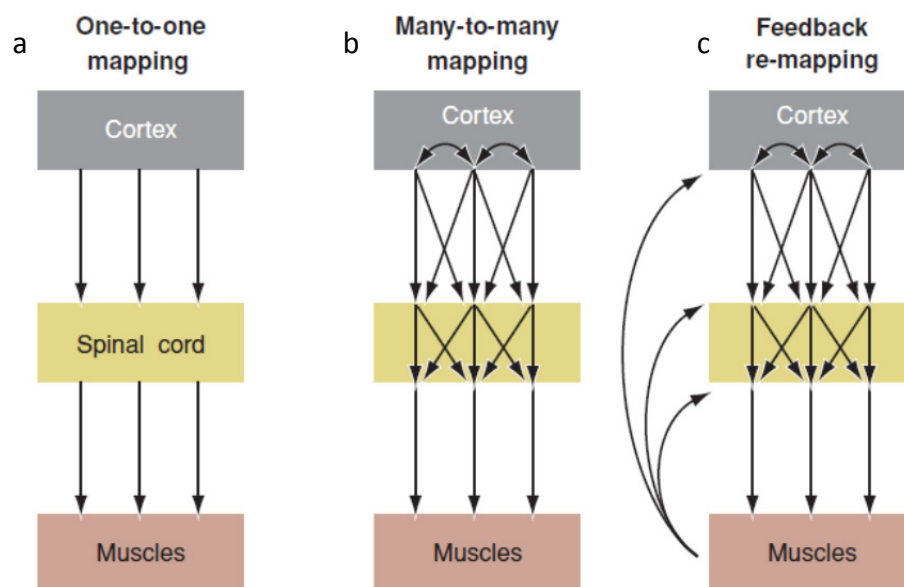


Abb. 7: Die Entwicklung der Motorkortexkonzeptionen

Die sukzessive Aufklärung der Verbindungen des Motorkortex im neuronalen Netzwerk führten von dem einfachen 1 : 1-Modell bei der Zuordnung von Kortex und Muskeln (a, s.Abb.3) zu dem immer komplexer werdenden Bild einer die Bewegung steuernden Zentrale, die eng mit unterstützenden Gehirnteilen verbunden ist (b) und über Rückkopplungsschleifen eine Erfolgskontrolle hat, die auch die kortikalen Repräsentanzen beeinflusst (c). Diese Verbindungsarchitektur ermöglicht so die Steuerung höherrangiger Verhaltensparameter. Aus: (Graziano 2006, S. 124).

¹³ Zilles 1983, S.267

1.3. Der Aufbau der motorischen Großhirnrinde

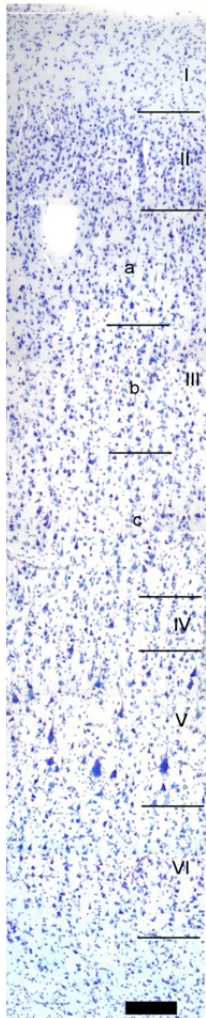


Abb. 8: Die Schichten des primären Motorkortex
Das Bild gibt einen Querschnitt durch den Motorkortex wieder, dessen Zellen mit einer Nissl-Färbung sichtbar gemacht und dessen Schichten eingezeichnet wurden. In Schicht V sind die Riesen-Pyramiden-zellen (Betz-Zellen) zu erkennen.
Schicht III kann in Unterschichten (a-c) gegliedert werden.
Messbalken 200μm

Die zytoarchitektonische Gemeinsamkeit der Motorkortexareale ist das Fehlen von Körnerschichten (Schicht II und IV), die den agranulären Rindentyp des Kortex charakterisiert. Körnerzellen sind die kleinsten Nervenzellen, fast völlig vom Zellkern ausgefüllt, und fungieren als exzitatorische Interneurone in Groß- und Kleinhirn (Haner and Scholtyssek 2000). Die funktionelle Nähe des frontalen Augenfeldes (BA 8) und des Brocazentrums (BA 44+45) zum motorischen Kortex zeigt sich anatomisch in ihrer Rindenschichtung vom dysgranulären Typ mit schwach ausgebildeter Schicht IV (Lamina granularis interna) (Zilles and Rehkämper 1998³)¹⁴. Die im motorischen Kortex fehlende oder sehr schwach ausgebildete Schicht IV der Hirnrinde (Abb. 8) lässt sich dadurch erklären, dass wenig aufsteigende Bahnen hier enden (Matelli, Luppino et al. 1989), insbesondere thalamische Afferenzen, die in die untere Schicht III ziehen, in die die Schicht IV ontogenetisch aufgegangen ist. Die zum primären Motorkortex projizierenden sensorischen und prämotorischen Areale nutzen auch die intrakortikalen Verbindungen in den Schichten II und III.

In den Motorkortexarealen dominieren Pyramidenzellen, exzitatorische Projektionsneurone mit pyramidenförmigem Zellleib, dem Apikal- und Basaldendriten entspringen. Ihre Axone stellen die Verbindungen zu anderen Kortexarealen, Gehirnbereichen und dem Rückenmark her, die Axonkollaterale bilden ein intrakortikales Netzwerk aus.

Dieses Netzwerk zeigt in den lokalen Verbindungen eine horizontale und vertikale Grundausrichtung. Die Pyramidenzellen als Prototyp exzitatorischer Neurone geben einerseits schichtbezogenen Informationen zu benachbarten Neuronen weiter, andererseits nehmen sie vertikal über ihren Dendritenbaum Informationen aus den Schichten auf, integrieren sie und geben sie an andere Schichten weiter. Interneurone als Prototyp inhibitorischer Neurone zeigen eine eindeutige vertikale Orientierung, da sich ihr Einflussbereich über horizontale Kollaterale meist über maximal 1-2 mm erstreckt (Ausnahme große Korbzellen). Diese Gegebenheiten haben die Vorstellung gestärkt, dass der Neokortex kolumnär aufgebaut ist (Jones and Rakic 2010).

Man geht davon aus, dass in den Kolumnen ähnliche Informationen verarbeitet werden. Die exzitatorischen Zellen projizieren intrakortikal vornehmlich horizontal, vertikal interlaminar und interkortikal über die weiße Substanz zu anderen Kortexbereichen. Die inhibitorischen Zellen wirken vor allem vertikal im Sinne einer Begrenzung erregender Prozes-

¹⁴ A.a.O. S.266

se.

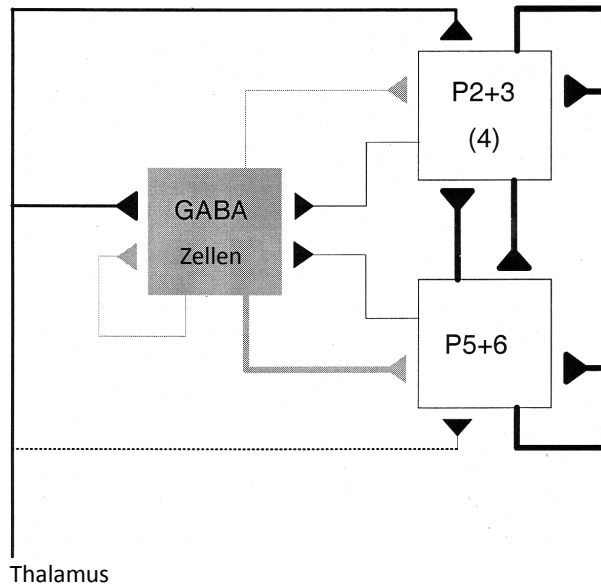


Abb. 9: „Canonical circuit“

Repräsentation der Hauptverbindungen im „canonical microcircuit“. Quadrate repräsentieren inhibitorische Interneurone (GABA Zellen) und Pyramidenzellen (P) mit der Angabe der kortikalen Schichten (Zahlen). Exzitatorische Verbindungen sind durch schwarze Verbindungen und Synapsen (Dreiecke), inhibitorische durch graue gekennzeichnet. Die Linienstärke verdeutlicht die Stärke des Einflusses.

Aus: (Douglas, Markram et al. 2004) S. 557

Diese Struktur ist für unterschiedliche Kortextypen der Wirbeltiere in Modelle gefasst worden, die in ihrer Struktur sich sehr stark ähneln (Shepherd 2004, S. 37). Sie wurden an visuellen Arealen entwickelt. Für den Neocortex der Säugetiere, insbesondere der Primaten, wird mit dem Modell der Anspruch erhoben ein „canonical circuits“ zu sein (Douglas, Martin), der für alle Areale die Grundstruktur der Verbindungen wiedergäbe und arealspezifisch nur angepasst werden müsse (s. Abb. 9). In seiner Vereinfachung der realen Verbindungskomplexität markiert das Modell das Minimum an Elementen und ihren Verbindungen in einem Schaltkreis, der die wesentlichen Aktivitäten des Kortex erklären kann:

- Funktional veranschaulicht es die Balance von Inhibition und Exzitation in rekurrenten Feedback-Beziehungen.
- Anatomisch trennt es Input- und Output-Schichten, die untereinander und über die inhibitorischen Zellen verbunden sind, somit Feedback und laterale Inhibition gewährleisten.
- Es gewichtet den Einfluss der Beziehungen. Der Input (insgesamt nur 10 % der Kontakte) zu den Pyramidenzellen (Schichten II, III und IV) wie zu den hemmenden Interneuronen wird von der Kommunikation der Pyramidenzellen untereinander dominiert.

Das besondere Kennzeichen des primären motorischen Kortex sind die nur in ihm vorkommenden Betzschen Riesenpyramidenzellen (Soma/Perikaryon: 50 – 80 µm, in Ausnahmefällen sogar bis 100 µm) in Schicht V, die einerseits ein Höchstmaß an Konvergenz afferenter Bahnen garantieren, was sich in dem weit verzweigten, auch lateral aus dem Soma aussprossenden Dendritenbaum zeigt, und andererseits ohne weitere synaptische Umschaltungen lange axonale Bahnen zum Hirnstamm und den Motoneuronen des Rückenmarks (bis zu 1,5 m) senden (Zilles and Rehkämper 1998³)¹⁵. Es sind die größten Projektionsneurone des Säugerhirns, die jedoch nur 30 000 von den 1 Mio Fasern der Pyramidenbahn stellen (Hanser and Scholtyssek 2000). Zusammen mit kleineren Pyramidenzellen der primär-motorischen Rinde stellen sie 30 % der Pyramidenbahn, weitere 30 %

¹⁵A.a.O. S. 267

entstammen den sekundär- und supplementärmotorischen Arealen und 40 % haben ihr Soma im somatosensorischen Cortex (Areale 1, 2, 3, 5 und 7 nach Brodmann). Ihre Fasern haben polysynaptische und keine monosynaptischen Verbindungen mit den motorischen Vorderhornzellen (Creutzfeldt 1983)¹⁶.

Diese sich evolutiv zunehmend herausbildende direkte Verbindung des Motorkortex mit den Motoneuronen des Rückenmarks erlaubt dem Menschen deren bewusste Kontrolle und befähigt ihn zu feinsten manipulativen Bewegungen der Hände. In diesen Bewegungen kumuliert die Kooperation der vielfältigen Areale. Diese feinmotorische Steuerung scheint ohne Somatotopik nicht möglich zu sein. Mit den immer präziser, differenzierter und komplexer werdenden elektrophysiologischen Ableitungen und Analysen wurde die Somatotopik genauer untersucht. Dabei stieß man auf einige Probleme, die das klare Bild motorischer Steuerung durch räumlich aufgeteilte und spezialisierte Gehirnbereiche, die bestimmten Muskelgruppen zugeordnet waren und einer Steuerungshierarchie mit sensorischen, verarbeitenden und planenden sowie ausführenden Gehirnarealen gehorchten, in Zweifel ziehen mussten (Graziano, Taylor et al. 2002b).

1.4. Entwicklung einer modernen Motorkortexkonzeption

Die neue Sicht auf den Motorkortex wurde Ende der neunziger Jahre des vorigen Jahrhunderts immer dringlicher angesprochen. Die Kritik entzündete sich vor allem an der sehr klar gedachten Somatotopik, deren Eigenheiten sich immer deutlicher von dem Vorbild des durch strenge Gliederungen gekennzeichneten visuellen Kortex unterschieden. Als Beispiel möge die Arbeit von Sanes und Donoghue dienen, die auf die verteilte, anpassungsfähige und dynamische Organisation des Motorkortex verweisen, die der Planung, Ausformung, Anpassung und dem Lernen von Bewegungen unterliegt. Sie bringen die Veränderungen der verteilten Repräsentationen etwa des Arms in Verbindung mit den adaptiven Anforderungen durch Verletzungen, Lernvorgänge oder Änderungen der sensorischen Eingänge. Als das Substrat für die dynamische Modulation der funktionalen Motorkortexrepräsentationen sprechen sie die aktivitätsabhängigen Änderungen im intrinsischen Netzwerk in Kombination mit subkortikalen (z.B. thalamischen) und kortikokortikalen Einflüssen an (Sanes and Donoghue 1997)¹⁷.

¹⁶ A.a.O. S.237

¹⁷ A.a.O. S.158: "Motor cortical organization has commonly been conceived as somatotopically ordered, with single body parts controlled from individual patches of cortical tissue. An opposing viewpoint suggests that motor cortex has a distributed, adaptive, and dynamic organization that underlies movement planning, performance, adaptation, and learning. Converging evidence from anatomic, neurophysiologic, and functional neuroimaging sources indicates that the arm area of motor cortical areas in monkeys and humans has multiple, interconnected sites that ostensibly contribute to controlling various parts of the arm. These representations can exhibit rapid and sometimes enduring modifications following injury, changes in somatic sensory input, and motor learning. Activity-dependent changes in the intrinsic motor cortical network of horizontal and vertical connections coupled with ascending thalamic and corticocortical inputs could provide a substrate for dynamic modulation of motor cortex functional representations." (s.a. Sanes und Schieber 2001)

Diese Neubetrachtungen des Motorkortex sind nicht einzelnen Experimenten entsprungen, sondern wurden durch die sich akkumulierende Evidenz verschiedener Erkenntnisse erzwungen (Schieber 2001).

Gründe für den Wandel

Graziano und Aflalo gehen in ihrem Review 2007¹⁸ davon aus, dass es eine Übereinkunft gibt, dass das Gehirn in verschiedene Areale mit unterschiedlicher Informationsverarbeitung aufgeteilt ist, von denen einige eine Entsprechung zwischen Hirnorten und dem Abgebildeten aufweisen, z.B. die Retinotopie der Sehwelt, die sensorische Somatotopik des Körpers oder die Tonotopie des Hörens (allesamt sensorische, also afferente Bereiche!). Andererseits funktionieren diese Areale nicht unabhängig, sondern sind in Netzwerke eingebunden, von denen die Steuerung der Motorik eines ist. Insgesamt sind alle Areale eingebunden in eine hierarchische Struktur der Netzwerke.

Auf den ersten Blick steht diese Sicht nicht im Widerspruch zu der traditionellen Betrachtungsweise eines somatotop organisierten primären Motorkortex. Jedoch scheint die klassische Vorstellung der Wissenschaftler eher von menschlichen Hierarchien mit „autoritären“ top-down-Beziehungen geprägt gewesen zu sein. Denn mit zunehmender Differenzierung der Erkenntnisse über M1 kam Kritik an den festen Verbindungsstrukturen der (klar) abgrenzbar gedachten Bereiche der Somatotopik und der 1 : 1 –Umsetzung der Verhaltensprogramme in Kontraktionen von Muskelkombinationen auf. Das hatte folgende Gründe:

Die somatotopen Karten in den Vorstellungen der Wissenschaftler waren abgrenzbare, zusammenhängende Funktionsrepräsentationen (mit nur minimalen Überlappungen), die z.B. bei intrakortikalen Mikrostimulations-Untersuchungen (ICMS) bestimmbar wären.

Genauere Untersuchungen zeigten jedoch bei Katzen, Affen (s. Abb. 10) und Menschen mehrere Repräsentationen z.B. für die Hand (Sanes and Donoghue 1997). Oder die Karten ließen sich bei genauer Analyse der Muskelstimulation von verschiedenen Orten des motorischen Kortex nicht reproduzieren (z.B. (Schneider, Zytnicki et al. 2001)¹⁹, (Devanne, Cassim et al. 2006)). Es gab kein 1 : 1 –Verhältnis von Neuronen zu Muskeln. Eine Kontraktion konnte von verschiedenen Stellen ausgelöst werden und das Maximum der Kontraktion wurde von Stellen erreicht, die nach den klassischen Karten eine schwächere Reaktion vorhersagten (Capaday 2004)²⁰. Zudem können die Karten von verschiedenen Faktoren abhängig sein (Stromstärke, Impulsfolge, Stimulationsfrequenz, aber auch die Anästhetietiefe (Donoghue and Wise 1982, Graziano, Taylor et al. 2002b)). Hinzu kam, dass nicht nur der primäre Motorkortex ins Rückenmark projiziert, sondern neben oder ergänzend auch prämotorische und somatosensorische Areale (Tanji and Shima 1994, Dum and Strick 1996, Dum and Strick 2005).

Es entstand ein Bild des Motorkortex, der reziprok und vielfältig innerhalb und mit anderen Arealen und Zentren verbunden ist und nicht streng somatotop organisiert sein kann-

¹⁸ A.a.O. S. 138

¹⁹ S.183

²⁰ S.209ff

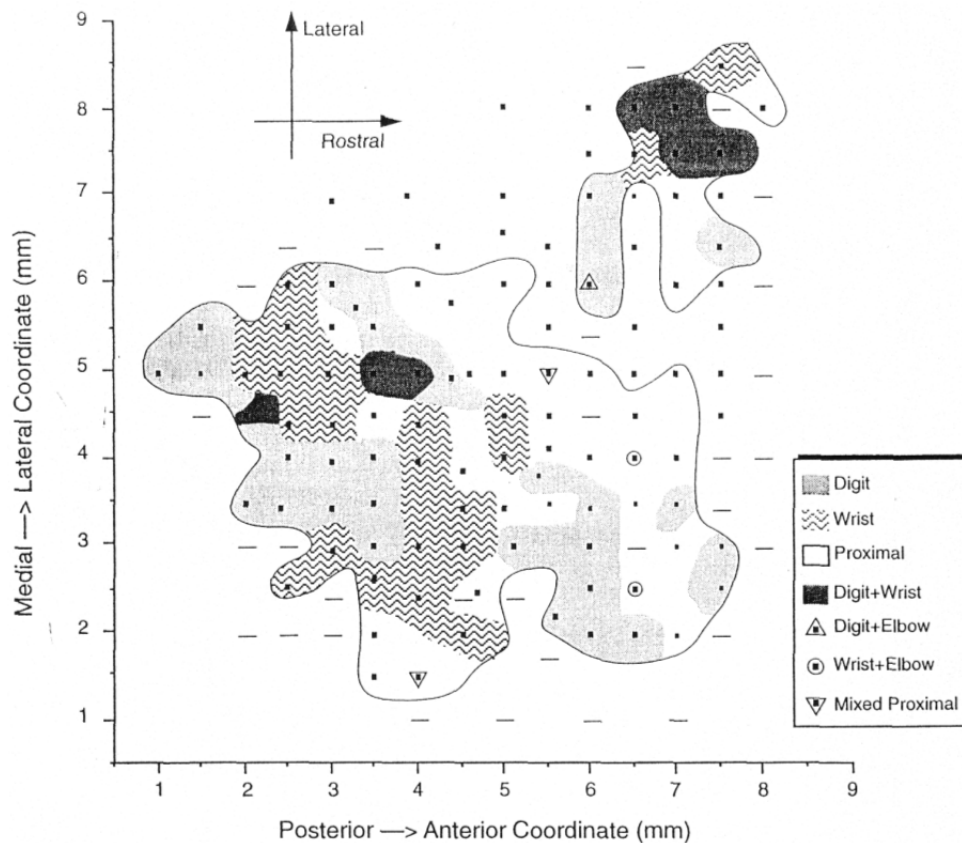


Abb. 10: Somatotopie Karte des Motorkortex anhand von intrakortikaler Mikrostimulation

Die Karte wurde durch überschwellige Mikrostimulation am Totenkopfpaffen ermittelt. Schwarze Punkte markieren die Stimulationspunkte. Solide Linien gruppieren Punkte, die Bewegungen des selben Körperteils hervorriefen. Hinzugefügte Flächenmarkierungen kennzeichnen Stellen, wo Bewegungen unterschiedlicher Teile der oberen Extremitäten hervorgerufen wurden. Am Beispiel der Fingerbewegungen wird deutlich, dass diese von mehreren unterschiedlichen Stellen hervorgerufen werden konnten, von denen auch unterschiedliche andere Körperteile angesprochen werden konnten. Vgl. Sanes, Donoghue 1997, S. 5

te (Donoghue, Leibovic et al. 1992, Schieber and Hibbard 1993, Sanes, Donoghue et al. 1995, Hatsopoulos 2010). Schon Penfield und Woolsey hatten Überlappungen festgestellt und wollten ihren Homunculus deshalb als Denkmodell und nicht als Faktenabbild verstanden wissen (Penfield and Rasmussen 1950, Woolsey, Settlage et al. 1952)²¹. Sie hatten allerdings die Gründe für die weiten Überlappungen in der Ausbreitung der Stromstärke über die gereizte Stelle hinaus interpretiert, die in der Tat bei ihrer Reizung der Hirnoberfläche, aber auch bei intrakortikale Mikrostimulation (ICMS) nicht auszuschließen ist (s. Abb. 11).

Läsionsstudien kamen ebenfalls zu der Einsicht weit überlappender Bereiche, so dass Sanes und Schieber zwar eine grobe Somatotopie in M1 als gegeben ansehen, sich innerhalb einer Körperteil-Repräsentation aber keine nachweisen lassen. In Hinblick auf die dieser

²¹ Zitate aus den Veröffentlichungen von Penfield (1950) und Woolsey (1952). Penfield and Rasmussen (1950, S. 56), kommentierten ihren Homunculus wie folgt: "A figurine of this sort cannot give an accurate indication of the specific joints in which movement takes place, for in most cases movement appears at more than one joint simultaneously. . . . The motor homunculus may be used as an aid to memory in regard to movement sequence and the relative extent of cortex in which such movement finds representation. It is a cartoon of representation in which scientific accuracy is impossible." Woolsey et al. schrieben "It must be emphasized . . . that this diagram is an inadequate representation of the localization pattern, since in a line drawing one cannot indicate the successive overlap which is so characteristic a feature of cortical representation. . . ." (Woolsey et al. 1952, p. 252) Zitiert nach Schieber 2001, S. 2127f bzw. Sanes/Schieber 2001, S. 969

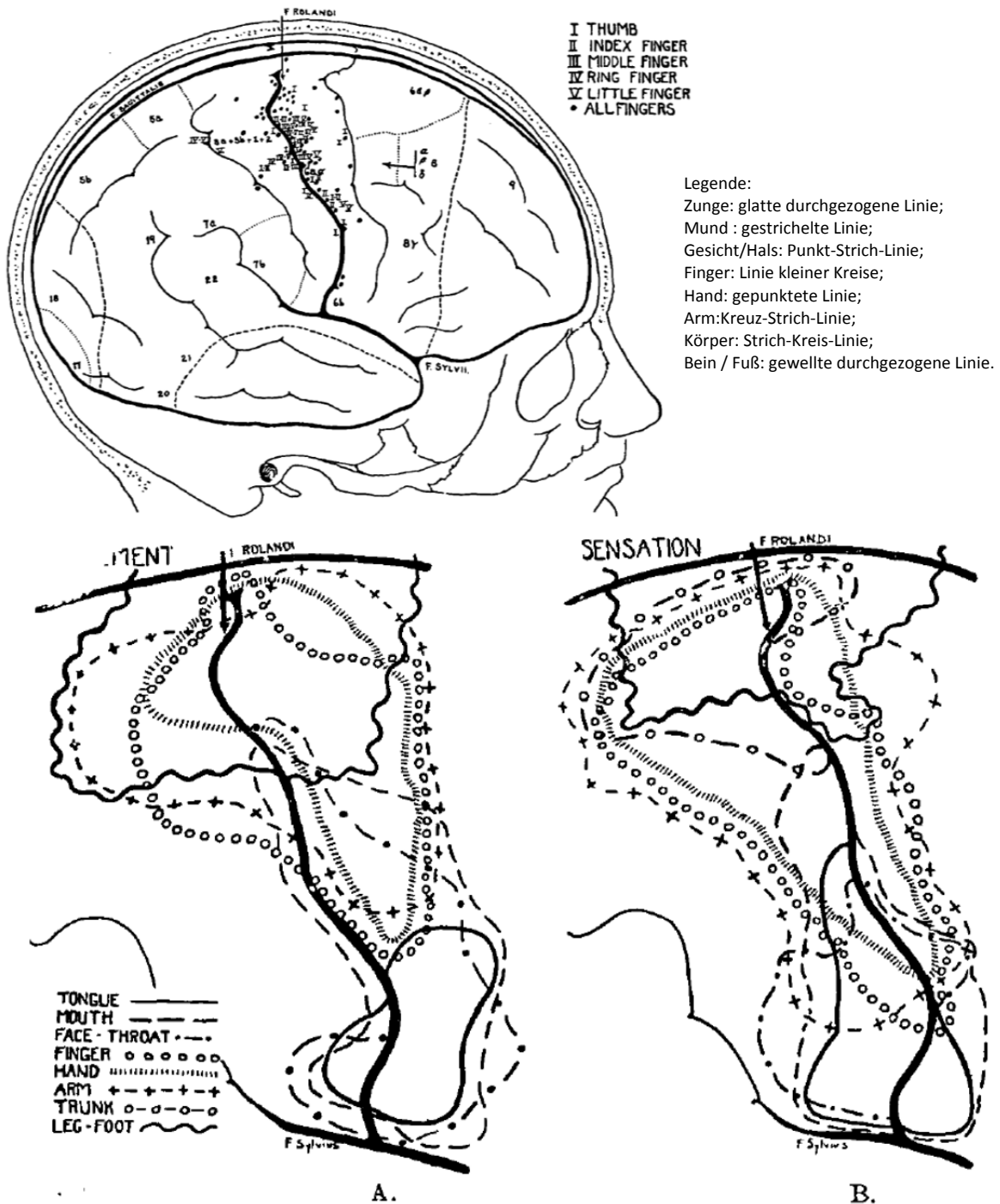


Abb. 11: Gehirnstimulationskarten

Die Übersichtsskizze (oben) zeigt die Stellen, von denen aus Fingerbewegungen ausgelöst werden konnten (s. Legende rechts oben). In der Karte wurden Orte von insgesamt 126 Patienten zusammengetragen, bei denen Fingerbewegungen ausgelöst wurden. Wenn nur bestimmte Finger sich bewegten, wurden sie mit römischen Zahlen gekennzeichnet: I = Daumen bis V = Kleiner Finger. Schwarze Punkte kennzeichnen Punkte, an denen alle Finger sich bewegten. Zu beachten ist, dass, im Gegensatz zu der diskreten Ordnung des Homunculus (Abb. 3) Daumenbewegungen sowohl medial als auch lateral, Bewegungen des Kleinen Fingers sowohl lateral wie medial ausgelöst wurden. Aus: (Penfield and Boldrey 1937), S. 412

In den beiden Skizzen darunter sind die sensorischen und motorischen Ergebnisse der Hirnreizungen zusammengefasst. Die Linien schließen die Bereiche ein, innerhalb derer Antworten für die jeweilige Untergliederung des Körpers festgestellt werden konnten. A) Bewegungen, B) Empfindungen. Die Linien in A) und B) schließen das gesamte Gebiet ein, von dem aus bestimmte Bewegungen hervorgerufen wurden. Zu beachten sind die Überlappungen distaler und proximaler Repräsentationen von Hand/Finger und Arm/Körper.

Die Bildvergrößerungen der Zentralfurche in A) und B) sind dem standardisierten Kopfbild darüber entnommen. Aus: (Penfield and Boldrey 1937), S. 430

Sicht entgegenstehenden TMS-, MRT- und PET-Studien²² am Menschen (s.o.) können Sanes und Schieber überzeugend darlegen, dass die somatotopischen Bewegungsrepräsentationen in M1 als die jeweiligen Zentren maximaler Muskelaktivierung einzelner Muskeln oder Muskelgruppen anzusehen seien (Sanes and Schieber 2001)²³. Physiologisch existierten keine Grenzen z.B. zwischen den Fingerrepräsentationen. Die somatotopischen Verschiebungen von Bewegungszentren sind dementsprechend klein verglichen mit den jeweils aktivierten Regionen. Deshalb seien die funktionalen Repräsentationen in M1 von verschiedenen Teilen der Oberarme des Menschen als graduelle somatotopische Repräsentations-Gradienten von anterolateral nach posteromedial entlang des Zentralsulcus anzusehen und nicht als separate, aneinander angrenzende und nicht-überlappende Bereiche (z.B. im Sinne von Funktionskolumnen)²⁴. Insgesamt zeigen die kortiko-spinalen und intrinsischen Konnektivitätsmuster von M1 eher, dass Divergieren und Konvergieren die Grundmerkmale von M1 sind und nicht Separieren und Spezialisieren der Funktionalität. Schieber setzt sich mit der Frage auseinander, ob verteilte, sich überlappende und mehrfache Repräsentationen und eine Somatotopik sich widersprechen und kommt zu dem Schluss, dass dies nicht zwingend sein müsse, aber eine neue Sicht auf den Motorkortex entwickelt werden muss, da dieser, im Gegensatz etwa zu den sensorischen Feldern, anders dimensionierte Informationen verarbeiten muss. Er nennt folgende Gründe:

- neben der Konvergenz weiterer Bereiche des Motorkortex auf die Kontrolle einzelner Körperteile führt er
- die Divergenz einzelner Neurone der Schicht V auf viele Motoneurone des Rückenmarks an, die mit einer gliedmaßenbezogenen Somatotopik schwer vereinbar ist,
- das horizontale, langreichweitige Axonkollaterale Netzwerk, das je nach Untersuchungsansatz bis zu 14 mm entfernte Neurone miteinander verbindet und damit große Körperbereiche assoziativ verknüpft,
- die weit gestreute Aktivierung von Neuronen bei der Bewegung kleiner Körperteile (z.B. Finger), wie
- deren Beeinträchtigung bei Läsionen anderer Körperbereiche, und schließlich
- motorisches Lernen, das die Repräsentationen verändert. (Schieber 2001)

Die Somatotopik ist unter bestimmten, physiologischen Untersuchungsbedingungen abrufbar. ICMS-Experimente sind daher mit der nötigen Vorsicht zu interpretieren. Graziano konnte dies deutlich machen, indem er die Dauer der Reizungen veränderte und erhebliche Konsequenzen für die Ergebnisse feststellte. Statt kurzer Impulse, die zu Muskelzuckungen und zu den somatotopischen Karten von Penfield und Woolsey führten, applizierte er eine physiologische Reizung wie sie auch bei natürlichem Verhalten messbar ist, was zu vergleichbaren verhaltensbezogenen Kontraktionen führte (s. Abb. 12) (Graziano, Taylor et al. 2002b) s.a. (Stepniewska, Fang et al. 2005). Diese Untersuchungen führten zu der Ansicht, dass der Motorkortex zwar Muskeln über die Motoneurone des Rückenmarks

²² TMS = Transkraniale Magnetstimulation; MRT = Magnet-Resonanz-Tomografie; PET = Positronen-Emissions-Tomografie

²³ „centroide“, a.a.O. S.972

²⁴ A.a.O. S.972

innerviert, jedoch nicht direkt Muskelkombinationen generiert, sondern *aufgabenbezogene* Verhaltensmuster, die je nach Situation und Position des Organismus zu unterschiedlichen Muskelkombinationen führen, also eine integrierte Steuerung darstellt (vgl. a. (Devanne, Lavoie et al. 1997)). In diesem Zusammenhang einer integrierten Steuerung weist Capaday (2004, S.211) darauf hin, dass die im Motorkortex angesiedelten „Muskel-synergien“ (Ting and McKay 2007)²⁵ nicht als anatomische Strukturen („hard-wired entities“) zu verstehen sind.

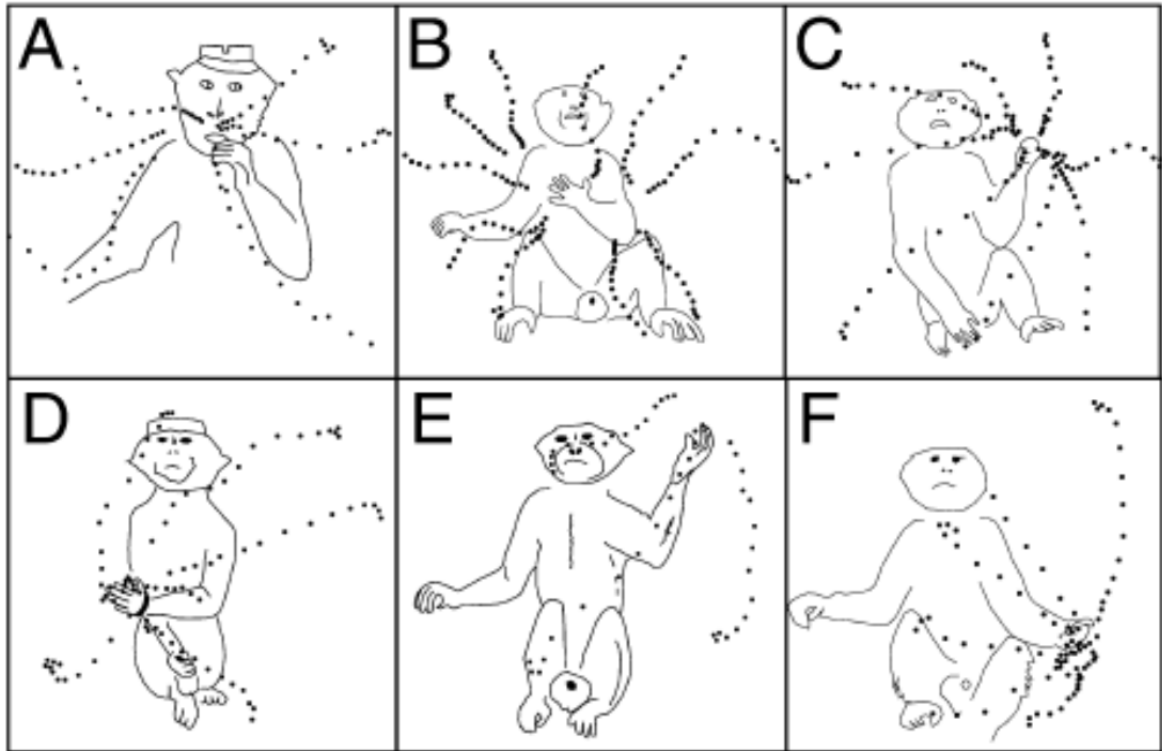


Abb. 12: Bewegungskodierung im Motorkortex

Intrakortikale Stimulierung mit 500 ms langen Reizen im Motorkortex von Affen bewirkte Bewegungen ähnlich denen in natürlichen Verhaltenssituationen. Stimulation von jeder Kortexstelle in der rechten Hemisphäre rief eine unterschiedliche Endposition der linken Hand und des linken Armes hervor. Unabhängig von der Startposition der Hand wurde die Hand zu der jeweils spezifischen Endposition geführt. Die gepunkteten Linien geben die Bewegung der Hand während der Stimulation wieder, die von Videoaufnahmen mit 30 Bildern pro Sekunde gezeichnet wurden.

Aus: (Graziano, Taylor et al. 2002c) S.352

Graziano und Aflalo zeigen 2007 in ihrem Review auf, dass einerseits das Prinzip „like attracts like“ dazu führt, dass sich funktionelle Areale voneinander abgrenzen lassen. Bei Bewegungen besteht aber das Problem, dass sie in einem dreidimensionalen Raum geschehen, aber in einer zweidimensionalen (Kortex-) Matrix abgebildet werden. Die Tatsachen, dass es unterschiedliche Karten mit Überlappungen und Widersprüche in den Befunden gibt, hängen nach Graziano/Aflalo damit zusammen, dass im Unterschied etwa zum visuellen System bei Verhaltensphänomenen die dreidimensionale Realität in der

²⁵ „Muscle synergies“ sind ein Konstrukt, das ein Bindeglied zwischen sensorischen Eingängen und deren assoziativer Verarbeitung mit den vom Motorkortex initiierten Bewegungsmustern repräsentiert. Dieses enthält Muskelsynergie-Muster („muscle synergies“), die in wenigen Übersetzungsschritten die Vielfalt des angepassten Verhaltens durch unterschiedliche Kombination erreichen. Muscle synergies übertragen Verhaltensziele in diese Muskelbewegungsmuster. Muscle synergies implizieren, dass individuelle Lösungen für Bewegungsaufgaben gefunden werden.

zweidimensionalen des Kortex repräsentiert werden muss. Je nachdem, unter welcher Perspektive oder welchem Parameter man M1 ansieht, ergeben sich daraus andere Modelle²⁶. Diese prinzipielle Überlegung hatte schon Schieber (2001) vorgetragen und deutlich gemacht, dass der Motorkortex sich auf eine mehr als dreidimensionale Wirklichkeit bezieht (Greifbewegungen der Armgelenke haben 27 Freiheitsgrade und mehr als 50 zu steuernde Muskeln (Sanes and Schieber 2001)). Er wies darauf hin, dass eine zerstreute, mehrfache Repräsentation mehr und flexibler Kombinationen verschiedener Muskeln steuern kann als eine streng somatotope Organisation, die in einem solchen verstreuten System prinzipiell nicht nötig ist. Dennoch ist eine, wenn auch nicht im „Piano-Keyboards“-Modell²⁷ gedachte Somatotopik dem Motorkortex unterlegt, die aus biomechanischen Gründen, als Ergebnis seiner Stammesgeschichte, von Vorteil gewesen zu sein scheint (Schieber 2001)²⁸.

Da weder eine strenge Hierarchie noch eine klare Somatotopik zu finden war, kam die konzeptionelle Frage nach einem angemessenen Modell in den Blick, welche Mechanismen dem Motorkortex unterliegen und wie die Steuerung der Funktionen gewährleistet wird. Mit der Entwicklung dieser neuen Sichtweisen wurden die Verbindungen zwischen den Neuronen, also das intrinsische Netzwerk des Motorkortex, immer bedeutsamer.

1.5. Die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen

Der Motorkortex gehört zu den dicksten Rindenarealen des Gehirns. Das hat seinen Grund auch in der Dichte der intrakortikalen Verbindungen, die nach genaueren Untersuchungen von Pyramidenzellen und die von ihren Axonkollateralen gebildeten intrinsischen Verbindungen und deren Netzwerke in den Blick geraten waren (Babmindra and Batuew 1976, DeFelipe, Conley et al. 1986b, Schwark and Jones 1989).²⁹

Die Grundidee, dass in den intrinsischen Verbindungen die Fähigkeiten des Motorkortex verborgen sind, wurde schon vor hundert Jahren formuliert (Brown and Sherrington 1912, Leyton and Sherrington 1917)³⁰. Die Diskussion der Bedeutung der intrinsischen Verbindungen nahm in den 70er Jahren an Intensität zu und wurde vor allem von Gatter und Powell 1978 auf eine neue Grundlage gestellt. Sie untersuchten die Interkonnektivität zwischen Finger und Vorderarmrepräsentationen im primären motorischen Kortex von Affen, indem sie durch ICMS die physiologischen und die zugehörigen anatomischen Daten mit neuen Färbemethoden von gezielt gesetzten Degenerationen erhoben. Ihr Au-

²⁶ A.a.O. S.139, 2.Spalte

²⁷ S. Anhang 27, Schieber zeigt in seinem Review 2001 auf, wie ein Modell des Motorkortex mit verteilten Repräsentanzen aussehen könnte. (Abb. 93 Pianomodelle)

²⁸ A.a.O. S.2138ff

²⁹ Damit soll nicht gesagt werden, dass sie vorher unbeachtet blieben. S. z.B. Cajal RS (1903): "Trab Lab Invest Boil Univ Madrid 11: 129-221.(zitiert nach Novojilova, Babmindra 1978); Lorente de Nó, R. (1949). "Cerebral cortex: Architecture, intracortical connections, motor projections." Physiology of the Nervous System: 288-330.(zitiert nach Asanuma 1975)

³⁰ "In fact, this idea was already clearly expressed by Leyton and Sherrington (1917), who thought that the "mutual associations" between separate motor cortical zones must be a key to the "synthetic powers" of the motor cortex (see also Graham-Brown and Sherrington 1912)." (Zitiert nach Capaday 1998, S.223f)

genmerk war auf die Lokalisation motorischer Funktionen (s. Kolumnendiskussion) und deren Unklarheiten gerichtet. Das Erscheinungsbild zeigte sich in fleckig verteilten, ellipsoiden Färbestellen. Die Schnitte enthüllten ein überraschend dichtes und weitreichendes Geflecht horizontaler Verbindungen, die insbesondere in den Kortexschichten II/III und V bis zu einer Entfernung von 3 mm von der Läsionsstelle auftraten (Gatter, Sloper et al. 1978). In der Folge wurde die Somatotopik in Hinblick auf die intrinsischen Verbindungen Gegenstand intensiver Untersuchungen und Diskussionen, ohne dass deren grundlegender topologischer Charakter in Frage gestellt wurde.

Die Diskussion nahm an Brisanz zu, als Huntley und Jones diese intrinsischen Verbindungen vor allem in jenen Körperregionen fanden, die an Verhaltensweisen zusammenhängend beteiligt sind, z.B. Handgelenk, Ellenbogen und Schulter in Abgrenzung zum Gesicht (Huntley and Jones 1991) und deren bidirektionaler Charakter durch anterograd gefärbte Axone und retrograd gefärbte Zellkörper belegt wurde (s. Abb. 13).

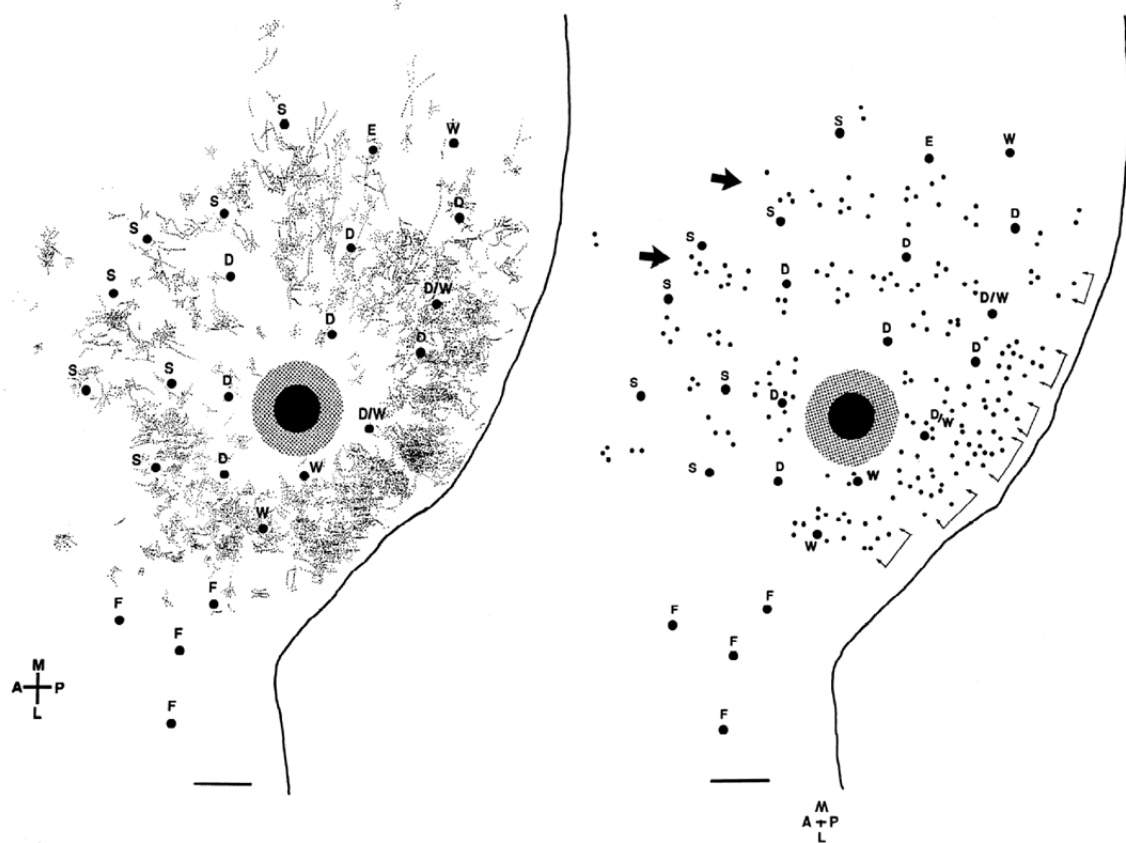


Abb. 13: Terminalfelder und Zellverteilung

Verteilung der gefärbten Terminalfelder (linke Abbildung) und Zellen (rechte Abbildung) im eingegebenen Motorkortex von Makaken. Die beiden Bilder stellen den gleichen Gewebeausschnitt dar und können übereinander gelegt werden. Diese auf die Oberfläche projizierten Ergebnisse geben die Position der HRP-Injektionsstelle wieder (großer schwarzer Kreis mit gepunktetem Kreisring). In beiden Bildern sind die Elektrodeneinstichkanäle durch dicke Punkte und Buchstaben, die den durch ICMS auslösbaren Muskel/Körperteil benennen, markiert. Darum herum sind links durch Punktierung die Terminalfelder, rechts durch kleine Punkte die Lage der Zellen wiedergegeben. Die Zellen wurden von den Verfassern gruppiert, was durch die dünnen Doppelpfeile am Rand eingezeichnet ist. Die großen Pfeile weisen auf locker aneinandergereihte, anterioposterior orientierte Streifen von Zellen hin.

Legende: HRP = Meerrettichperoxidase (horse-radish-peroxidase); ICMS = intrakortikale Mikrostimulation; D = (digit) Finger; F = (face) Gesicht; s = (shoulder) Schulter; w = (wrist) Handgelenk. Der Messbalken: 1 mm.

Verändert aus: Huntley und Jones 1991, S.402f.

Die Arbeiten von Keller et al. bestätigten die immense Bedeutung der intrinsischen Verbindungen (Aroniadou and Keller 1993, Keller 1993a, Keller and Asanuma 1993b, Keller 1993c, Weiss and Keller 1994). In anderen Untersuchungen wurden Vergleiche der Verbindungsstrukturen verschiedener Areale und in verschiedenen Spezies gezogen (Levitt, Lewis et al. 1993, Lund, Yoshioka et al. 1993, Tokuno and Tanji 1993, Pucak, Levitt et al. 1996). Capaday und Devanne konnten in ihren elektrophysiologischen und anatomischen Studien von Beuger und Strecker-Muskeln des Handgelenks zeigen, dass die aufgewiesenen Verbindungsstrukturen zwischen antagonistischen Muskelgruppen intrakortikaler (intrinsischer) Natur sind (Capaday, Devanne et al. 1998). Dabei beeindruckte sie zugleich die Dichte der Verbindungen entlang von Axonen, die sie an den zahlreichen Boutons en passant (im Gegensatz zu Boutons der Axon-Terminalien) ablasen (s. Abb. 14). Damit waren die wesentlichen Züge des intrinsischen Netzwerkes des primären Motorkortex beschrieben, die lediglich durch die enormen Reichweiten, die nachgewiesen werden konnten, ergänzt wurden. Hier entsprang die Frage dieser Arbeit nach den Gegebenheiten im primären Motorkortex des Menschen.

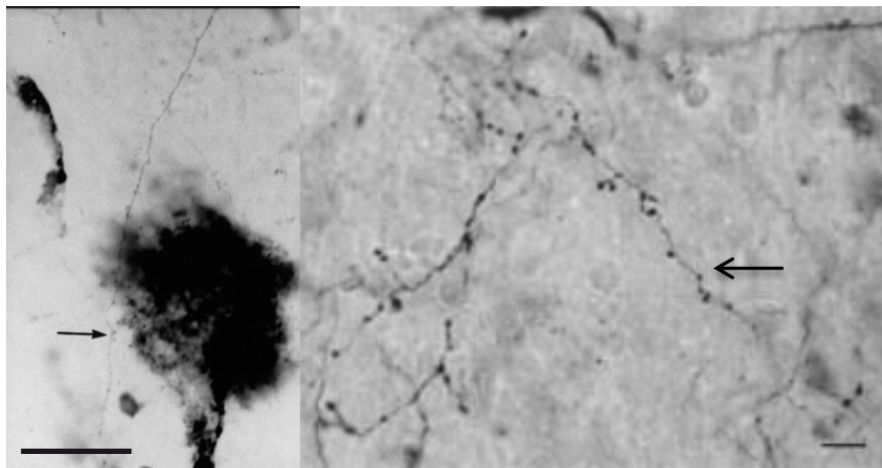


Abb. 14: Boutons en passant
Die Pfeile zeigen auf die kleinen Schwellungen am Axon, die die synaptischen Kontakte darstellen (Boutons en passant).
Linkes Bild aus: Capaday, Devanne 1998, S. 226, Messbalken 47,5 μm ;
rechtes Bild aus: Capaday 2004, S. 209, Messbalken 10 μm .

Die Erkenntnis, dass im primären Motorkortex ein weitreichendes horizontales Kollaterallennetzwerk existiert, bestärkte die Zweifel an der somatotopen 1:1-Zuordnung verteilter Repräsentanzen. Capaday et al. fühlten sich durch ihre Untersuchungen in ihren Modellvorstellungen von Netzwerken bestätigt, in denen praktisch alle mit allen verbunden sind, nicht gleichmäßig und nicht alle exzitatorisch, aber doch so vielfältig, dass eine nur gezielt gedachte Verbindung ausgeschlossen werden konnte. Sie lasen dies an ihren Ergebnissen ab, dass die Kollateralen entlang ihres Verlaufes mit Boutons besetzt waren (nicht nur an den Terminalfeldern) und dass die Dichte der Boutons in dem betrachteten Raum hoch war, auch wenn sie vom Zentrum zur Peripherie abnahm. Damit waren zwei Kriterien von Netzwerkmodellen erfüllt, die sich in der geclusterten Verteilung der Neurone und der diffus erscheinenden Verteilung der Boutons widerspiegeln (s. Diskussion). „Steckt das „Wissen“ des Motorkortex in seinen Verbindungen?“ fragen denn auch Capa-

day et al (Capaday, Ethier et al. 2009)³¹ am Ende ihres Artikels und fordern weitere Untersuchungen zu Modellen von der integralen und dynamischen Mustergeneration des Motorkortex.

Damit wuchs das Interesse an der internen Organisationsstruktur des Motorkortex, an den „maps“ und „INPUT-OUTPUT“-Karten (Kaas 1991, Grafton, Woods et al. 1993, Lotze, Erb et al. 2000, Das, Franca et al. 2001). Orientierend für diese waren vor allem die Untersuchungen von Hubel und Wiesel (u.a.) des visuellen Systems, die funktionelle Gruppen in Kolumnen mit retinotopen, binokularen Afferenzen detektierten. Vor diesem Hintergrund steht die Frage nach der intrinsischen Konnektivität des humanen Motorkortex in dieser Arbeit.

³¹ A.a.O. S.2140

2. Material und Methoden

Die vorliegenden Untersuchungen haben an Post-Mortem-Gewebe vor allem des primären motorischen Kortex mit Hilfe eines lipophilen Farbstoffes die intrinsischen Verbindungsstrukturen ermittelt.

Der Erkundung des Menschen sind ethische Grenzen gesetzt, die gerade bei der Erforschung des Gehirns wirksam werden. Beim Menschen sind elektrophysiologische Untersuchungen am intakten Gehirn auf operationsbegleitende Erkundungen begrenzt, die keine systematischen Forschungsstrategien unter nicht operationskonformen Fragestellungen zulassen. Die nichtinvasiven Untersuchungsmöglichkeiten von fMRT und TMS (PET) haben hier neue Perspektiven eröffnet und tiefe Einblicke in die Komplexität der Gehirntätigkeit gegeben. Allerdings sind die Daten nicht einfach zu interpretieren und ihre Aussagekraft unterliegt gewissen Beschränkungen, da diese Methoden nur relativ grobe oder indirekte Schlüsse auf anatomische und funktionelle Zusammenhänge ermöglichen, die mit der räumlichen und zeitlichen Auflösung der Untersuchungsmethoden verbunden sind und einer Verfeinerung bedürfen (Rothwell 1997, Walsh and Cowey 2000). Deshalb sind viele Untersuchungen am Menschen nur post mortem möglich, die im Wesentlichen anatomische Strukturen aufklären können.

2.1. Gewebe

Ich habe den primären Motorkortex an 11 Gehirngeweben von 8 Personen³² untersucht, von denen wir annehmen können, dass sie frei von neurologischen Erkrankungen waren. Die Personen waren im Alter von 27 – 59 Jahren verstorben. Den Verstorbenen wurden Gewebeblöckchen entlang der Zentralfurche mit prämotorischem, primärem motorischen und somatosensorischem Kortex entnommen, in der Regel mediale Bereiche. Diese entsprechen in der klassischen Somatotopik Bereichen, die den Rumpf und die Beine repräsentieren (vgl. Abb. 2). Die Bereiche wurden deshalb gewählt, weil M1 hier die größte Breite hat und damit die Sicherheit im Motorkortex zu bleiben gewährleistet war.

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Gewebe.

³² Der Zugang zu den Gehirnen wurde durch eine Kooperation des MPI für Hirnforschung mit dem Frankfurter Institut für Rechtsmedizin (Prof. Dr. Bratzke) der Johann Wolfgang Goethe-Universität ermöglicht und unterlag den deutschen Regelungen zur Entnahme von humanen Gewebeteilen für Forschungsvorhaben und der Zustimmung des lokalen Ethikkomitees der Frankfurter Universität. Im Anhang sind die Gewebe den Sektionsnummern zugeordnet.

Person (P)	Areal	Hemi-sphäre	Geschlecht	Alter in Jahren	Fixier-Zeitpunkt in Stunden p.m.	Injektions-Zeitpunkt in Tagen p.m.	Geschnitten nach Jahren
1	smC	l	männlich	34	10	3	4,5
	smC	r					7,5
2	mC	r	männlich	29	1	5	4,75
	mC+sC	l					4,5
3	mC	l	weiblich	27	14	5	6
4	smC	l	männlich	32	10	4	0,5
	mC	r					5
5	smC	r	männlich	59	10	5	4,5
6	smC	r	männlich	51	12	3	13
7	smC	l	männlich	30	19,5	7	9
8	pmC	r	männlich	34	17,75	4	8

Tab. 1: Gewebe

Die Tabelle enthält Informationen zu den untersuchten Geweben. Die grau unterlegten Gewebe wurden halbquantitativ (P2) bzw. quantitativ (P4+P8) untersucht.

Im Anhang finden sich die zu den Geweben gehörenden Sektionsnummern (s. Anhang 32).

Abkürzungen: mC = motorischer Kortex (Brodmannareal (BA) 4, smC = sensomotorischer Kortex (BA 1 – 4), l/r = linke/rechte Hemisphäre, p.m. = post mortem.

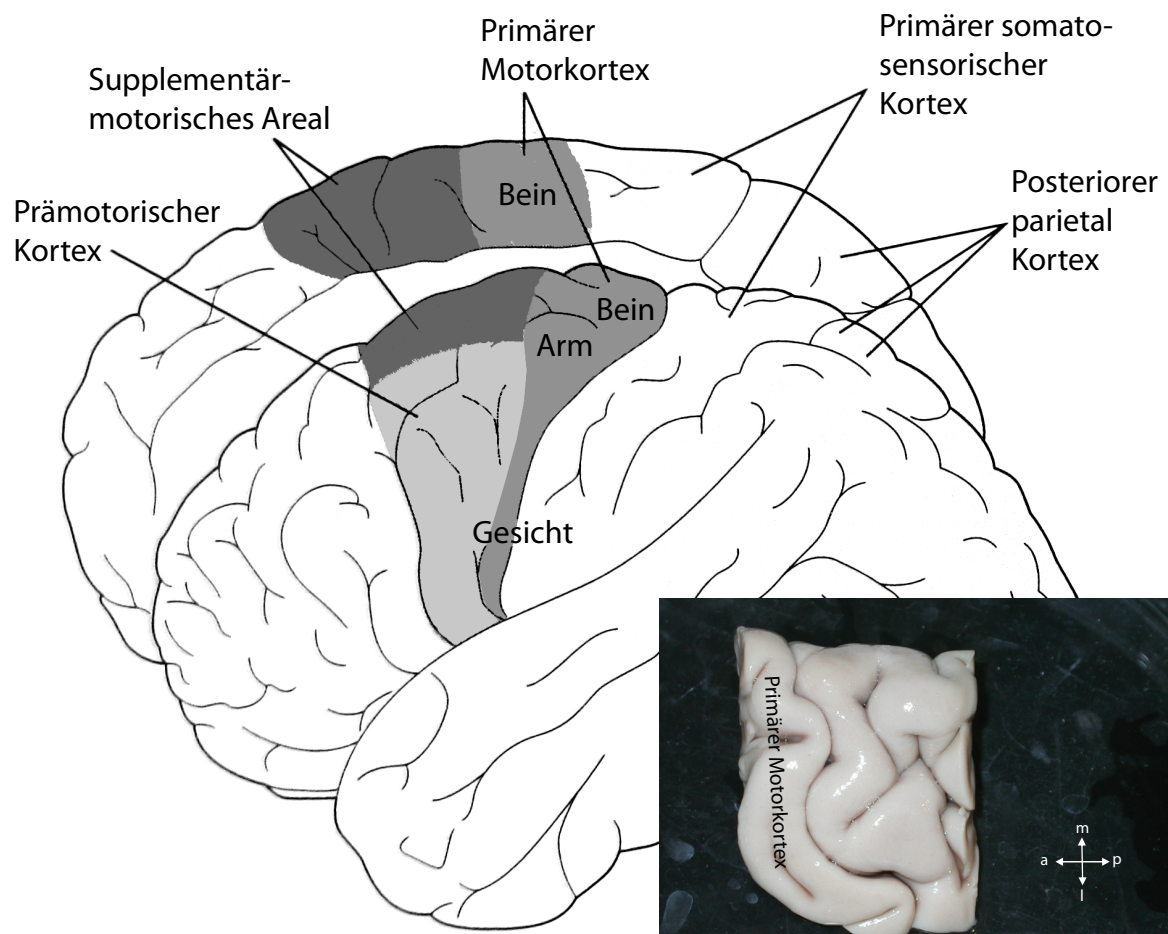


Abb. 15: Die motorischen Areale

Die Grafik gibt eine Übersicht über die Lage der motorischen Areale im Gehirn, rechts unten ist ein verwendetes Gewebestück abgebildet. Der Motorkortex umfasst den primären Motorkortex (M1), den prämotorischen, supplementär-motorischen und cingulärmotorischen Kortex. Dem primären Motorkortex liegt im Zentralsulcus der primäre somatosensorische Kortex (BA 1-3) gegenüber, deren Übergang im Sulcusboden liegt. Aus: Kandel 2013, S. 840

2.2. Methoden

2.2.1. Fixierung

Um für diesen Zweck das Gehirngewebe verwenden zu können, wurden die dorso-medialen Gewebeblöckchen innerhalb von 7 bis maximal 24 Stunden nach dem Todeszeitpunkt entnommen und mindestens 48 Stunden in Paraformaldehyd fixiert. Die Lösung enthielt 2,6% Paraformaldehyd (PA), 0,8 % Iodessigsäure, 0,8 % Natriumperiodat und 0,1 molares d-I-Lysin in 0,1 molarem Phosphatpuffer bei pH 7,4 (Burkhalter and Bernardo 1989b).

Die Fixierung mit Paraformaldehyd hat sich als sehr effektiv herausgestellt (Schüz and Palm 1989), bei denen Konzentrationsunterschiede von PA (1% oder 4%) keinen Unterschied ergaben (Chen, Miller et al. 2006). Demgegenüber reduzierten Glutaraldehyde sowohl die Anzahl der gefärbten Neurone als auch die Färbintensität bei Konzentrationen über 0,5% (Horikawa and Powell 1986). Ähnliches scheint für Formalin zu gelten (Friedman, Johnson et al. 1991). Die Paraformaldehyd-Fixierung ist für die vorliegende Untersuchung auch deshalb von Vorteil, weil geringfügige Schrumpfung und Quellung sich mehr oder minder ausgleichen und die Größe des Gewebes in seiner ursprünglichen Ausdehnung gewahrt bleibt. Formaldehyd wirkt wenig denaturierend, vernetzt die Proteine, deren Sekundärstruktur größtenteils erhalten bleibt, Lipide werden nur geringgradig herausgelöst, Glyko- und Lipoproteine werden mittels Eiweißanteil vernetzt (Burck 1988, Romeis 1989, Lang 2006).

Anschließend an die 2 – 7 Tage dauernde Fixierung wurden die Gewebeblöckchen in Phosphatpuffer gewaschen.

2.2.2. Färbung

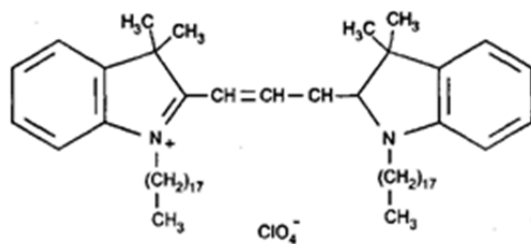


Abb. 16: Formel von Dil

= 1,1'-Dioktadezyl-3,3',3'-Tetramethylindokarbozyanin Perchlorat

In den vorliegenden Untersuchungen wurden die intrinsischen Neuronenverbindungen des primären Motorkortex mit Hilfe eines post-mortem Markierungsverfahrens mit dem Carbozyanin-Farbstoff Dil (1,1'-Di-oktadezyl-3,3',3'-Tetramethylindokarbozyanin Perchlorat)³³ aufgeklärt.

Dieser Fluoreszenzfarbstoff wurde gewählt, weil er auch in fixiertem Material eine intensive Färbung bewirkt, die nur sehr langsam ausbleicht. Als lipophiler Farbstoff überspringt er keine Zellgrenzen, so dass er sich für die Aufklärung der intrinsischen Konnektivität hervorragend eignet.

Die Dil-Farbkristalle wurden mit Hilfe einer an der Spitze etwa 50 µm breiten Glaspipette injiziert, indem ein kleiner Schlitz in das Gewebe geschnitten wurde, in den der Kristall eingesetzt wurde.

³³ Details zum Farbstoff s. Anhang A 33



Abb. 17: Injektion eines Dil-Kristalls in den Motorkortex.

a) Der Kristall wird mit der Spitze einer Glaspipette aus der gelieferten Grundsubstanz aufgenommen und in einen vorher gesetzten Schlitz im Motorkortex instilliert (b).

Die mikroskopisch gemessenen Dil-Kristalle waren in der Regel zwischen 400 und 600 μm lang und zwischen 50 - 150 μm breit. Sie wurden mit einer in Ethanol getränkten Glaspipette aufgenommen, entweder direkt aus der gelieferten Grundsubstanz oder aus einer übersättigten Dil-Lösung in 30% Dimethylsulfoxid (DMSO, Merck, Darmstadt) / 70% Ethanol, in der die Kristalle gezüchtet wurden. Die Gewebe wurden anschließend mindestens

6 Monate in 2% PA in Phosphatpuffer (pH 7,4) bei 37° C im Dunkeln gelagert. Bei unseren Gewebeblöckchen betrug die Lagerzeit zwischen 3 und 13 Jahren (s. Tab. 1: Gewebe).

Entscheidend ist, dass die weiße Substanz beim Einsetzen nicht verletzt wird bzw. vom Farbkristall nicht erreicht wird, weil sonst in der weißen Substanz an der Injektionsstelle vorbeiziehende Axone unbekannter Herkunft gefärbt und damit das Bild des intrinsischen Netzwerkes verfälschen würden.

Die Diffusion des Farbstoffs erfolgt transversal in Membranen (s. Bleichungsstudien (Bloom and Webb 1983, Deleers, Servais et al. 1984)). Die Diffusionsrate liegt rechnerisch nahe an der eines entsprechenden, frei beweglichen Moleküls (Honig and Hume 1989, Chen, Miller et al. 2006).

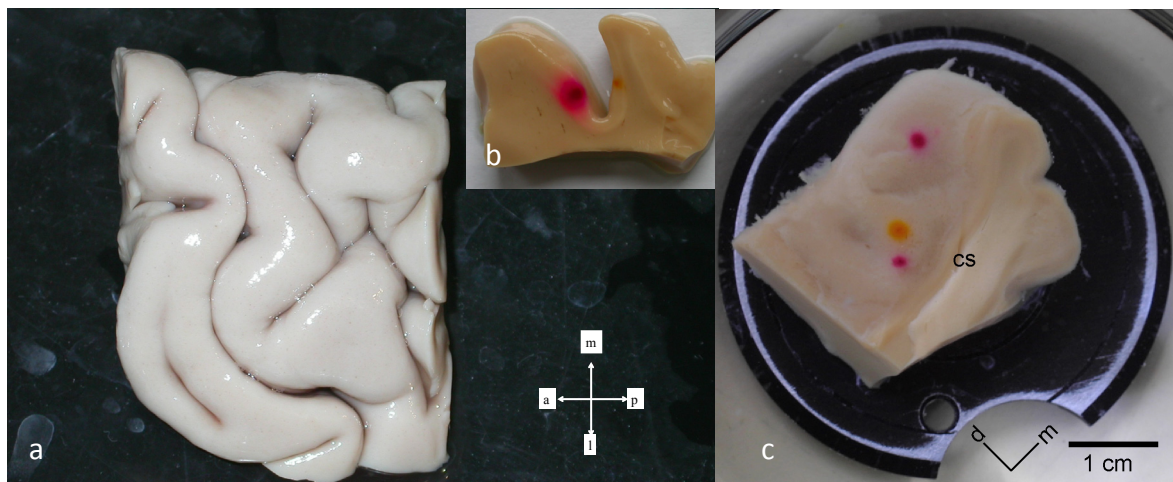


Abb. 18: Motorkortex und gefärbte Gewebe

a) Die Zentralfurche mit primärem Motorkortex nach anterior und somatosensorischen Kortex nach posterior.

b) Transversalschnitt durch die Zentralfurche mit Färbungsstelle im Motorkortex.

c) Motorkortex mit Färbungsstellen (CS = Zentralsulcus).

Lagekreuz für linkes und mittleres Bild (m = medial, l = lateral, a = anterior, p = posterior, d = dorsal).

Der Farbstoff markiert alle Neurone, die durch die Injektion des Farbkristalls verletzt werden oder deren Membran den Kristall direkt kontaktieren. Die Markierung beruht darauf, dass dieser lipophile Farbstoff in den Lipiddoppelmembranen der Neurone (passiv) diffundiert und deshalb alle wegziehenden Axone (anterograd) wie die zur Injektionsstelle projizierenden Neurone (retrograd) markiert. Dadurch ist der Farbstoff auch in totem, schon fixiertem Gewebe anwendbar. Wässrige Medien stellen für ihn eine Barriere dar. Der synaptische Spalt reicht aus, so dass der Farbstoff keine Zellgrenzen überspringt und spezifisch und detailreich neuronale Strukturen anfärbt. Die Färbung ist erfolgreich unter folgenden Bedingungen:

- Post-mortem-Intervall unter 24 Stunden (Verhindern von Abbauprozessen) (Ferrer, Santpere et al. 2007, Crecelius, Gotz et al. 2008, Ferrer, Martinez et al. 2008),
- PA-Fixierung des Gewebes (Verhindern von Zellmembranschäden),
- Aufbewahrung bei 37 °C im Dunkeln (gute Diffusionsgeschwindigkeit und Verhindern des Ausbleichens),
- Herstellung der Schnitte mit dem Vibratom (kein Farbstoffverlust),
- Einbettung der Schnitte und Aufbewahrung bei 4° C im Dunkeln und

- Untersuchungen der Schnitte innerhalb eines Jahres (danach sind Bleichungseffekte festzustellen).

Der Erfolg der Färbung ist dennoch nicht immer gewährleistet und scheint abhängig von der Fixierungszeit und individuellen Besonderheiten des jeweiligen Gewebes sowie den Ereignissen und Bedingungen vor dem Tod der Person zu sein (Friedman, Johnson et al. 1991)³⁴ (Chen, Miller et al. 2006).

Die Arbeitsgruppen um Prof. R.A.W.Galuske (vgl. (Thal, Capetillo-Zarate et al. 2008)) gehen von einem zuverlässigen Einsatz von Dil unter den genannten Bedingungen aus. Bei der Wahl dieses Farbstoffes sollte jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass von Artefakten bei dem Einsatz von Dil berichtet wurde. Deshalb wurde im Anhang (33) eine Auseinandersetzung mit diesen Befunden wiedergegeben.

Einige Vertikalschnitte der Gewebe wurden zur Bestimmung der Schichtzuordnung und der Arealgrenzen nach den Kriterien von Brodmann und v.Economo /Koskinas (Brodmann 1909, Von Economo and Koskinas 1925) mit Kresylviolett (Nissl-Färbung) gefärbt. Dazu wurden die Schnitte in einer Saccharoselösung mehrere Tage eingelegt. Anschließend wurden Gefrierschnitte angefertigt und auf (gelatinierte) Objektträger aufgezogen, getrocknet und mit Kresylviolett gefärbt³⁵.

³⁴ A.a.O S.301

³⁵ Einzelheiten der Färbeprozedur s. Anhang 35

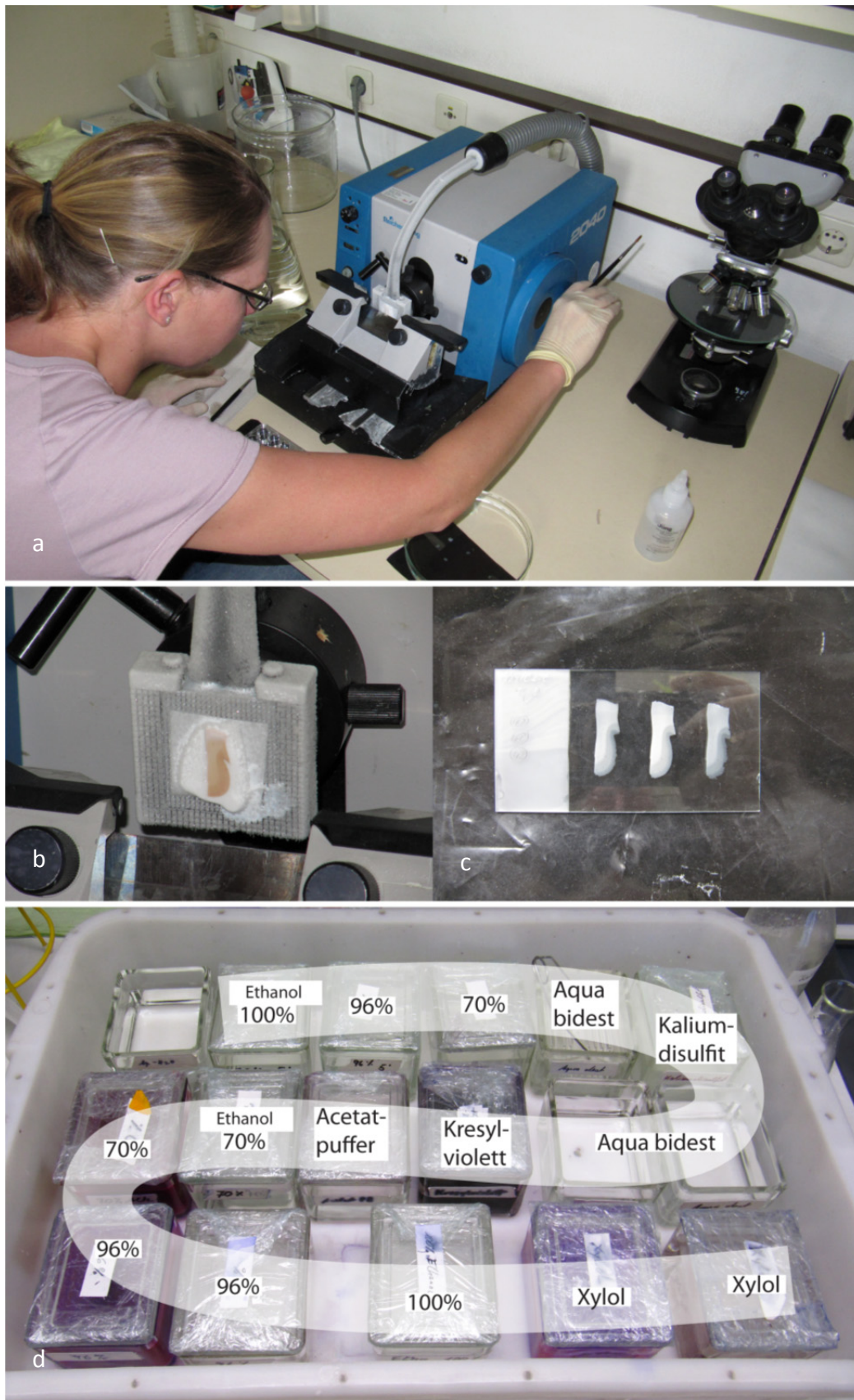


Abb. 19: Nissl-Färbung.

Eine Gewebescheibe wird auf eine Halterung aufgefroren (b) und mit einem Mikrotom geschnitten (a). Die Schnitte (c) werden auf Objektträger aufgezogen und in einem mehrschrittigen Verfahren mit Kresylviolett gefärbt (d). Färbeprotokoll s. Anhang 35.

2.2.3. Herstellung der Gewebeschnitte

Das Gewebe ist wellig und nicht plan. Um topografische Aussagen vornehmen zu können, muss es eingeebnet werden. Dies kann vorher geschehen, indem das Gewebe eingeebnet wird (Huffman and Krubitzer 2001), oder die Daten der Einzelschnittzeichnungen werden im Nachhinein rechnerisch bearbeitet. Die Gewebe wurden nicht eingeebnet, da die Verzerrungen von Verbindungsstrukturen durch Scherkräfte und Pressdruck erheblich sind, sondern rechnerisch bearbeitet.



Abb. 20: Herstellung der Gewebeschnitte

a) Das Gewebe wird mit Gewebekleber lagegerecht auf eine Platte aufgeklebt, in diesem Beispiel für einen Horizontalschnitt parallel zur Kortexoberfläche. Diese Platte wird in das Vibratom (b) eingespannt und gekühlt (c, am Beispiel eines Vertikalschnittes senkrecht zur Kortexoberfläche). Ein Schlitten führt das vibrierende Messer mit einer einzustellenden Frequenz und Geschwindigkeit durch das Gewebe (b). Die Schnitte werden mit einem Pinsel aufgenommen.

Um die Blöckchen schneiden zu können, wurden sie in lauwarmen 4% Agar eingebettet, und 70-100 μm dicke Schnitte mit einem Vibratom (Leica VT 1000E) entweder horizontal/parallel oder vertikal/senkrecht zur Gewebeoberfläche angefertigt, um sowohl die laminare als auch tangentielle Struktur der intrinsischen Verbindungen zu analysieren. Dabei wurde das Blöckchen mit Eiswasser gekühlt, um die Stabilität des Gewebe-Agar-Blöckchens zu erhöhen. Die Schnitte wurden in mit 0,05% Natriumazid (NaN_3) versetzten Phosphatpuffer aufgenommen und bei 4° C aufbewahrt.

Für die mikroskopische Analyse wurden die Schnitte innerhalb weniger Tage in einem Gemisch aus 90% Glycerin, 10% 0,1 M Phosphatpuffer + 0,05 % NaN_3 auf Objektträger

aufgezogen, eingedeckt und mit Gummikleber³⁶ abgedichtet. Die Schnitte können so ohne Gefahr der Austrocknung mehrere Monate aufbewahrt und analysiert werden.

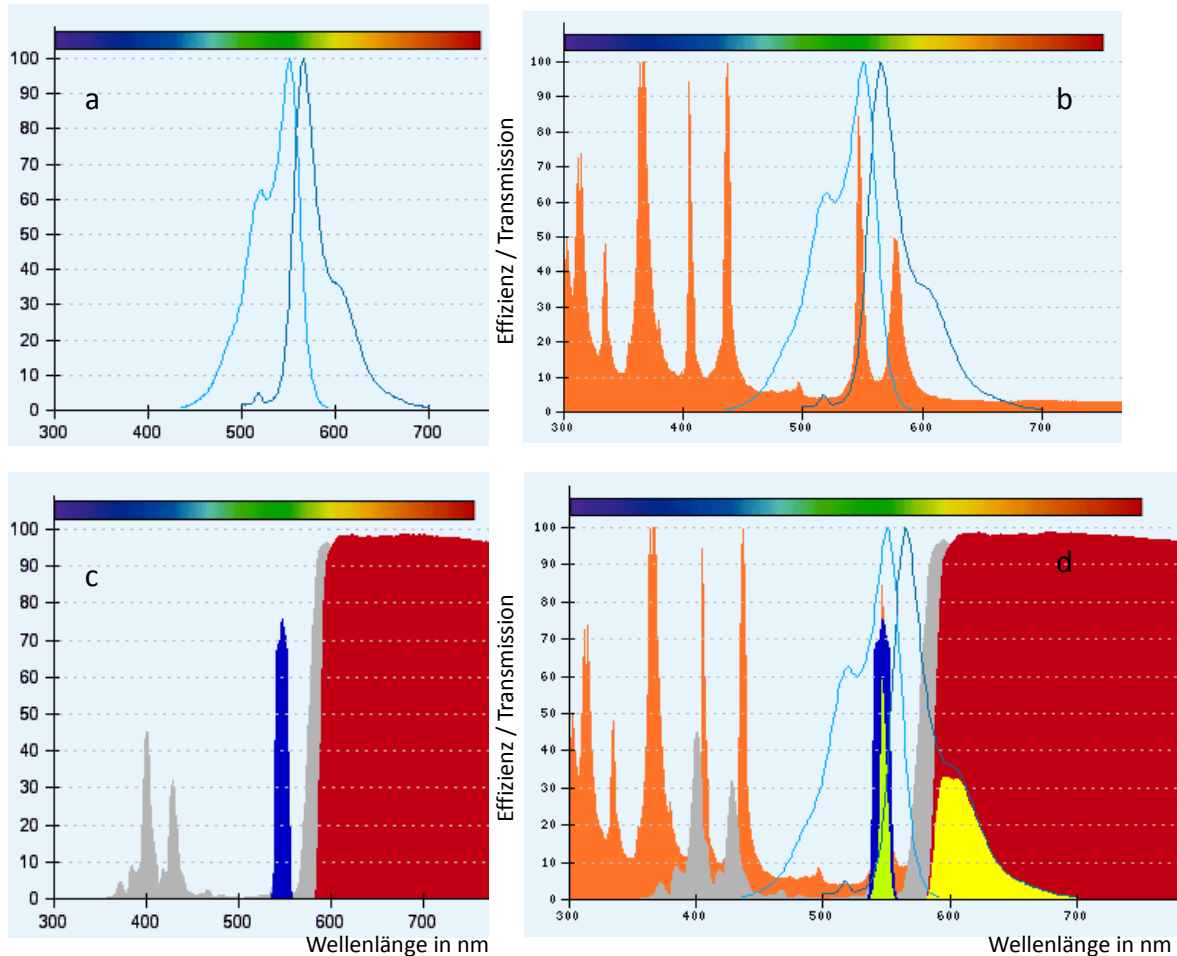
In der Arbeit wurde davon ausgegangen, dass die Gewebe durch die Fixierung nicht geschrumpft sind und die Schnitte durch die Gewebespannung in etwa in vergleichbare Lage untereinander eingebettet wurden (Korrekturmaßnahmen s.u.).

³⁶ Gummikleber „fixogum“, elastischer Montagekleber von Marabu GmbH & Co.KG, D-74321 Bietigheim-Bissingen

2.3. Auswertungen

2.3.1. Mikroskop, Kamera, Software

Die Schnitte wurden fotografisch und zeichnerisch dokumentiert. Zur Mikroskopie wurde ein Zeiss Photomikroskop Axiophot III (mit Fotoausrüstung) verwendet. Für die Fluoreszenzmikroskopie wurde der Filtersatz 15 (Anregung BP 546, Strahlteiler FT 580, Emission LP 590) eingesetzt. Bei Fluoreszenzfarbstoffen nutzt man deren Eigenschaft, Licht zu absorbieren und diese Energie in längerwelligem Licht wieder abzugeben. Ein mit Dil gefärbter Schnitt wird im Fluoreszenzmikroskop mit Licht einer Quecksilberdampflampe (HBO 50 bzw. 103 W) beschienen, das durch den Bandpass-Filter auf Licht der Anregungswellenlänge $546 \text{ nm} \pm 6 \text{ nm}$ reduziert wird. Dil-Fluoreszenz leuchtet hellrot, weil durch den Langpass-Filter von dem Emissionsspektrum (Maximum bei 563 nm) nur der Wellenlängenbereich $>590 \text{ nm}$ passieren kann.



Abbildungen verändert nach: https://www.micro-shop.zeiss.com/us/us_en/spektral.php

Abb. 21: Dil Spektrogramme

a) Absorptions- und Emissionsspektrum von Dil.

b) Diese Spektren unterlegt mit dem Anregungsspektrum einer Quecksilberdampflampe (orange).

c) Charakteristika des Filtersatzes 15 (BP 546, FT 580, LP590); in dunkelblau das Anregungs-, in Rot das Emissionsspektrum, grau die Wirkung des Strahlenteilers.

d) alle Spektren (a-c) übereinandergelegt; in hellgrün ist die Effizienz des Anregungs-, in Gelb die des Emissionsspektrums wiedergegeben. Die Effizienzkurven sind immer von geringerer Intensität als die Kennkurven von Farbstoff und Filtersatz. Der Farbbalken über den Grafiken geben das Spektrum des sichtbaren Lichtes wieder.

Grafiken verändert nach Vorlagen von Zeiss (https://www.micro-shop.zeiss.com/us/us_en/spektral.php)

Zu Beginn der Untersuchungen im Jahr 2001 wurden die Schnitte mit Hilfe einer *Camera lucida* zeichnerisch dokumentiert und die intrinsische Struktur des Gewebes horizontal und vertikal rekonstruiert. Hier galt es, im Zentralbereich des mikroskopischen Bildes zu arbeiten, um die optischen Randverzerrungen zu umgehen. Anhand von Bildern der Mikroskopkameras wurden diese Befunde unter Verwendung der Filme Agfapan 100 sw zusätzlich dokumentiert. Die Bilder wurden mit einer Auflösung von 1350 dpi digitalisiert.³⁷

2.3.2. Lichtmikroskopische Auswertung

Anfänglich wurden die Entfernungen per Hand gemessen. Im Folgenden ist ein Beispiel

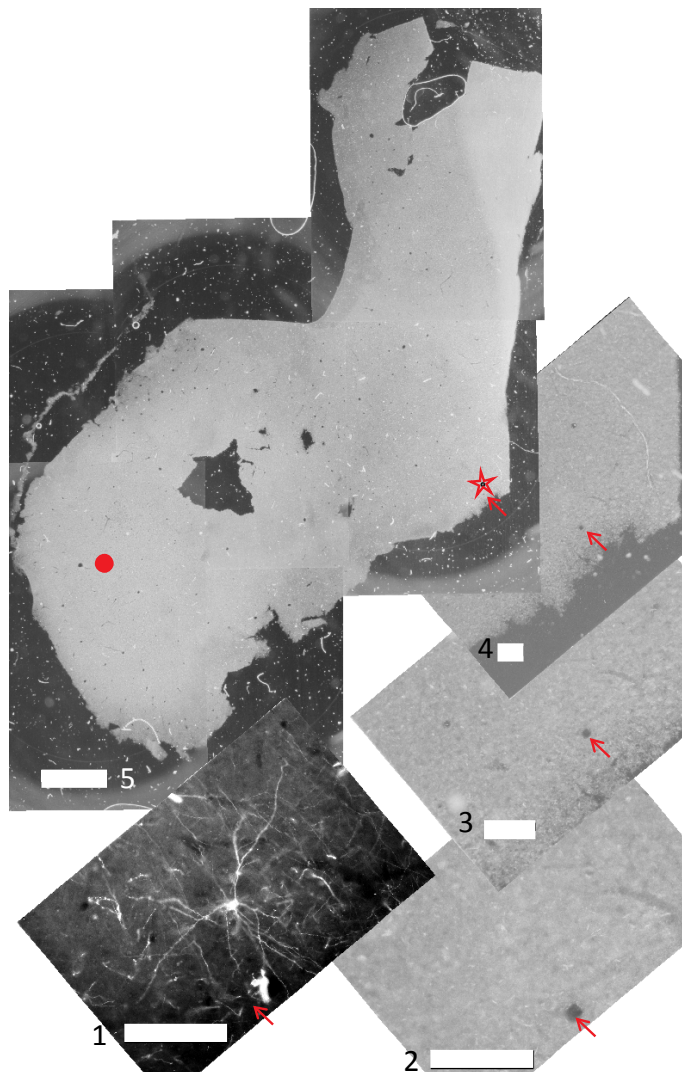


Abb. 22: Manuelle Messung der Zellabstände am Beispiel der entferntesten Zelle

Die Gewebestelle des Fluoreszenzbildes der Zelle (1) wurde bei gleicher Vergrößerung im Lichtmikroskop (2) und dann bei stufenweise geringeren Vergrößerungen fotografiert (3+4). Auf diese Weise konnten Gewebemerkmale wie Blutgefäße (s. Pfeile) genutzt werden, um den Ort der Zelle im Gewebe (Stern) zu identifizieren. Der Punkt gibt die Injektionsstelle an. Messbalken im Übersichtsbild (5) 2 mm, in allen übrigen Bildern 200 µm. Lagegerechte Darstellung

für eine Dokumentation eines Neurons mit Hilfe von Fluoreszenz- und Lichtmikroskopbildern wiedergegeben (s. Abb. 22). Zunächst wird das in einem Fluoreszenzbild gefundene Neuron anhand von lichtmikroskopischen Schnittbildern (Pfeile) verschiedener Vergrößerungen im Bild des Gesamtschnittes lokalisiert (roter Stern) und die Entfernung zur Injektionsstelle (roter Punkt) per Hand mit dem ebenfalls fotografierten Referenzmaßstab für diese Vergrößerung ausgemessen.

Nach Einführung einer Digitalkamera (2004, MPIH: Kamera ProgRes Capture Pro 2.5 Jenoptik, Germany/TU-Darmstadt: ProgRes CapturePro 2.0 C10plus) und des Zeichenprogramms Neurolucida (MBF Bioscience, Williston) wurden die Schnitte mit diesen Hilfsmitteln dokumentiert. Jetzt konnten die intrinsischen Netzwerke quantitativ erfasst werden, indem die Lage der Zellkörper in Bezug auf die Injektionsstelle mit ihren genauen Raumkoordinaten registriert wurde. Längenmessungen konnten am Bildschirm vorgenommen bzw. über das Auswertungsprogramm „Neu-

³⁷ Bilder zu den Mikroskoparbeitsplätzen s. Anhang 37

rolucida Explorer“ errechnet werden.

Aus den Zeichnungen mit den darin markierten Zellen konnten räumliche Gewebebilder zusammengesetzt werden. Dabei dienten die eingezeichneten Blutgefäße und Konturen als Alignmentpunkte, um die Zeichnungen lagegerecht übereinander zu montieren. Durch die darüber gesicherten Daten konnten auch die statistischen Analysen mit Hilfe des Programms „Neurolucida Explorer“ bzw. durch eigene Programme (Software „Matlab“) erstellt werden.

Zusätzlich wurde das Dendritenfeld einzelner Zellen mit der *Camera lucida* bzw. dem Neurolucida-Programm gezeichnet und die Durchmesser (max/min) vermessen. Auswahlkriterium für diese Einzelzellen war ein, soweit beurteilbar, unverletztes Dendritenfeld. Den Zeichnungen konnte die Verzweigungsstruktur entnommen werden, in Neurolucida wurden die entsprechenden Dendritenastlängenangaben ausgegeben.

Axone konnten in jeweils einem Schnitt verfolgt und dokumentiert werden. Über mehrere Schnitte war dies nicht möglich, da aufgrund der Dichte der gefärbten Strukturen eine Identifizierung des Axonverlaufs zumindest mit größten Unsicherheiten verbunden war.

2.3.3. Patch-Definition

Die Färbung der Netzwerkstrukturen ergab ein Bild mit fleckig verteilten Färbungen, die in Vertikalschnitten wie Wolken in den Schichten hingen. Diese „wolkigen“, gefärbten Flecken werden in der Literatur „Patches“ genannt und das Aussehen des Netzwerkes insgesamt als „patchig“ gekennzeichnet³⁸. Die Färbung des Gebietes wird durch die Neuronen und deren Neuropil³⁹ (nicht myelinisierte Dendriten, Glia) sowie Axone, die in das und durch das Gebiet ziehen, bewirkt (Galuske, Schlote et al. 2000)⁴⁰. Übereinanderliegende Patches in den Schnitten lassen sich zu räumlichen, ellipsoiden Gebilden zusammenfügen. Patches sind demnach Cluster von Neuronen mit ihren Verbindungsverdichtungen verteilt um die Injektionsstelle.

³⁸ Zum Sprachgebrauch eine Anmerkung: Ich habe mich um einen weitgehend deutschen Sprachgebrauch bemüht, bin an einer wichtigen Stelle jedoch an dessen Grenzen gestoßen. Ich habe mich für den Gebrauch des Begriffes „Patch“, der in der englischsprachigen Literatur verwendet wird, entschieden, weil ich keinen passenden deutschen Ausdruck dafür gefunden habe, der griffig ist und beschreibend bleibt, also der Klärung seiner Struktur und Funktion nicht durch die Wortwahl vorgreift. Alternativen wären: Neuronengruppe (zu unspezifisch), Kolumne (zu eng gefasst), neuronale Funktionsgruppe (interpretiert schon), Cluster (noch am ehesten geeignet, aber auch für zufällige oder mathematisch errechnete Ansammlungen verwendet)... Da sich die Wissenschaftler zunehmend der englischen Sprache bedienen und für englische Fachbegriffe nicht immer eine deutsche Übersetzung suchen, halte ich dies für eine legitime Vorgehensweise, die letztlich darauf hinausläuft, alle im Englischen eingeführten Fachausdrücke auch in anderen Sprachen zu übernehmen.

³⁹ „Neuropil [von griech. neuron = Nerv, pilos = Filz] ursprünglich von S. Apathy (1897) geprägter Begriff für das damals z.T. angenommene, kontinuierliche Nervenzell-Reticulum (die Reticulumtheorie wurde dann von der Neuronentheorie verdrängt); heute versteht man unter Neuropil ein unmyelinisiertes Faser- und Netzwerk aus Axonen, Dendriten und ihren Endverzweigungen, das den Raum zwischen den Perikaryen der Nerven- und Gliazellen in der grauen Substanz des Zentralnervensystems meist ausfüllt.“ (Hanser und Scholtyssek 2000)

⁴⁰ vgl. S.1949 a.a.O.

Die „Patch“-Grenzen in einem Schnitt sind nicht immer eindeutig und wurden vom Beobachtenden festgelegt. Als „Patch“ wird ein gefärbter Bereich gewertet, der sich aufgrund des Neuropils „hinreichend“ vom dunklen Hintergrund abhebt und mindestens eine retrograd gefärbte Zelle enthält (vgl. Abb. 23, 37 - 39). In der Arbeitsgruppe wurden neben der Erprobung computergestützter Verfahren einige Schnitte von verschiedenen Mitarbeitern unabhängig voneinander gezeichnet und die Unterschiede erörtert. Die Frage einer Objektivierung zur Festlegung der Patchgrenzen wurde ausführlich diskutiert und in folgenden Kriterien zusammengefasst.

„Wir fassen den Mut, uns der unserer visuellen Wahrnehmung entspringenden eigenen Urteilkraft zu bedienen und verstehen unter einem Patch Folgendes:

Ein Patch ist gekennzeichnet durch die mehr oder minder deutliche Abgrenzung eines gefärbten Gewebegebietes, das sich gegenüber dem mehr oder minder nicht gefärbten Umfeld abhebt und mindestens ein Neuron enthält.

Ausnahmen werden dort vorgenommen, wo ein Patch ohne Zelle lagegleich direkt über oder unter einem neuronenhaltigen Patch des Schnittes darüber und/oder darunter registriert wurde.

Die Grenzen eines Patches legen wir dort, wo das leuchtende Neuropilgebiet endet.“ (Galuske, Schlote et al. 2000)⁴¹

Diese Kriterien erwiesen sich als praktikabel. Auch wenn in den Übersichtsbildern die patchige Erscheinungsform sich nicht immer auf den ersten Blick entdecken lässt, sind unter dem Mikroskop meist klare Grenzen der patchigen Neuronengruppen zu erkennen.

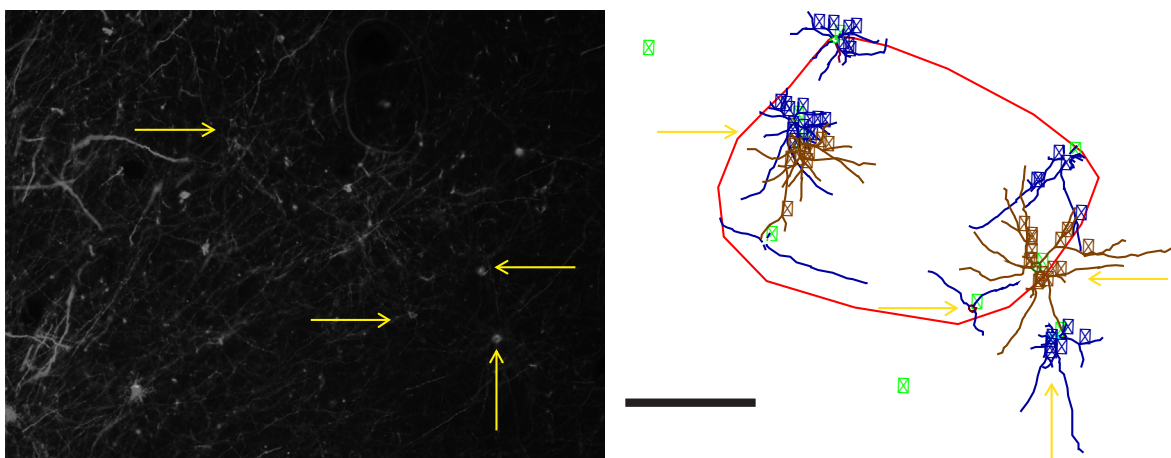


Abb. 23: Vergleich von Mikroskopbild und Zeichnung eines Patches

Die Zeichnung rechts wurde vom Beobachter gemäß der Patchdefinition (s.Text) erstellt. Sie zeigt, dass diese Definition Zellen ausschließen kann, obwohl sie nahe bei der leuchtenden Fläche (Patch) liegt und Teile der Zelle (Dendriten) in den Patch hineinragen. Die Definition hat jedoch den Vorteil einer meist klaren Grenzziehung. Messbalken 200 µm

Kritische Punkte dieses Vorgehens:

Manche Patch-Abgrenzungen sind mit dem menschlichen Auge nicht eindeutig zu ziehen, es können mehrere Grenzverläufe des Patches gezogen werden.

Manche Dendriten von Patch-Neuronen gehen über die vom Neuropil bedingten Patch-Grenzen hinaus und manche Neurone werden von dem Neuropil nicht eingeschlossen

⁴¹ Vgl. S.1949 a.a.O.

und werden damit aus einem Patch ausgeschlossen, obwohl sie unmittelbar neben der Neuropilgrenze liegen. Das kann auch Terminalfelder von Axonen betreffen. Mit unserem Vorgehen haben wir uns für enge Grenzen einer Patchdefinition entschieden.

2.3.4. Patchgrößen

Per Hand wurden die Patches durch den längsten und kürzesten Durchmesser vermessen und die Fläche als Ellipse nach der Formel πab näherungsweise errechnet, dabei sind a und b die Halbachsen einer Patchfläche. Diese Formel liegt auch dem Programm Neurolucida als Flächenformel zugrunde. Ansonsten gibt das Analyseprogramm von Neurolucida die Größen: Umfang, Durchmesser (max/min), Fläche, Entfernung zum nächsten und fernsten Nachbarn bei Zellkörpern und Patches, Entfernung zur Injektionsstelle (Locusanalyse: Injektionsstelle = locus), die jeweiligen Durchschnittswerte der Entfernungsmessungen, Anzahl der Zellen in geschlossenen Konturen (hier = Patches) und in der Raumsäule über und unter einer (Patch-)Kontur an.

Das Volumen wurde zur besseren Kontrolle stets eigenständig ausgerechnet. Dabei wurden die übereinanderliegenden Patchflächen summiert und mit der Schnittdicke (70 bzw. 100 μm) multipliziert. Wenn in einer solchen Kortexsäule zwischen den gezeichneten Patches ein Schnitt lag, in dem kein Patch eingezeichnet war, sich aber Zellen befanden, wurde für das Volumen dieses Teils der Kortexsäule ersatzweise der Durchschnittswert der Patchflächen dieser Kortexsäule mit der Schnittdicke multipliziert und addiert. Die Patchtiefe ergab sich aus der Schnittanzahl mal Schnittdicke.

Das Patchvolumen wurde beispielhaft ermittelt. Es wurde ein Patchstapel ausgewählt, der klar abgrenzbar war (Zone 2 der Zellverteilung, vgl. Abb. 35) und der in einem Bereich war, der auf einer Gewebekuppe lag, d.h. der bei der rechnerischen Einebnung des Kortex nicht höhenkorrigiert werden musste. Für diese Auswertung wurden alle Schnitte verwendet, die Zellen über, unter oder zwischen den gezeichneten Patch-Schnitten enthielten (insgesamt 25 Schnitte). Ein weiteres Beispiel wurde anhand der Fotodokumentation zweier Patches ermittelt.

Im prämotorischen Kortexgewebe (P8) wurden Patches vermessen, deren Z-Werte höhenkorrigiert wurden. Hierbei wurde ein mittlerer Korrekturfaktor verwendet, der jedoch insofern ohne Auswirkungen blieb, da alle Patches eindeutig unterhalb der Schicht I und innerhalb von Schicht II und III lagen.

2.3.5. Dendriten und Boutons

Die Dendritendurchmesser wurden durch zwei Messungen erfasst. Der längste Dendrit repräsentiert die maximale Ausdehnung des Dendritenfeldes. Die minimale Ausdehnung könnte nur geschätzt werden, weil der kürzeste Dendrit nicht die schmalere Stelle des Dendritenfeldes kennzeichnet. Ersatzweise wurde der zweitlängste Dendrit gemessen. Durch die sternförmige Anordnung der Basaldendriten spiegelte dieser Wert am ehesten eine realistische Dendritenfelderfassung wider.

Die Boutonzählungen wurden in gut sichtbaren Bereichen vorgenommen, um die Fehler durch Überlagerungen und Überstrahlungen zu minimieren. Es wurden alle Entfernungsbereiche um die Injektionsstelle in der Untersuchung repräsentiert.

2.3.6. Abschätzung der Injektionstiefe des DiI-Kristalls

Um die Injektionstiefe des Kristalls einzuschätzen, wurden die deutlich sichtbaren Verletzungen des Gewebes durch den Kristall als sicheres Indiz genommen. Sie waren bis in eine Tiefe von 600 μm feststellbar. Anhand von narbenähnlichen Gewebestellen und der mit bloßem Auge sichtbaren Intensivfärbung kann angenommen werden, dass der unmittelbare Kontaktbereich des Kristalls bis in eine Tiefe von 1000 μm reichte.

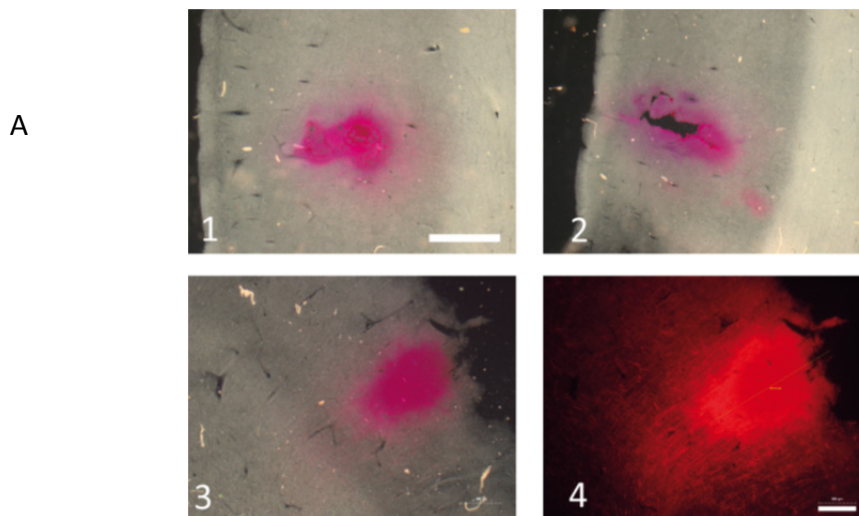
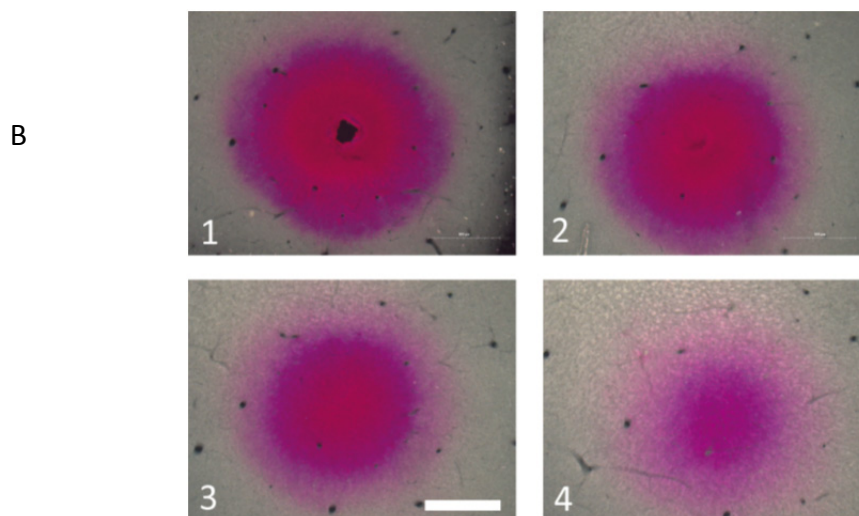


Abb. 24: Injektionstiefe

A) Bilder von Vertikalschnitten. Man sieht, dass der Kristall mittig instilliert wurde. Bild 4 ist eine Fluoreszenzaufnahme der gleichen Stelle wie in Bild 3, einer lichtmikroskopischen Aufnahme. Die durchgängig fluoreszierende Zone reicht über die sichtbare Färbung hinaus. Messbalken Bilder 1 + 2: 1 mm, Bilder 3 + 4 500 μm .

B) Lichtmikroskopische Bilder von Horizontalschnitten aus zunehmender Gewebetiefe. Bild 1 zeigt eine deutliche Gewebeverletzung (Schnitt 13), Bild 2 eine nur narbige Stelle in der Mitte (Schnitt 15). Von beiden kann angenommen werden, dass der Kristall bis in die Tiefe dieses Schnittes reichte. Bild 3 zeigt in der Mitte einen vom Farbstoff völlig durchdrungenen Bereich, ohne Gewebeverletzung (Schnitt 16). Bild 4 zeigt die Stelle mit abnehmender Farbtintensität (Schnitt 18). Messbalken 500 μm für Bilder 1 - 4.



Aus implantierungstechnischen Gründen kann der Dil-Farbkristall nicht so exakt platziert werden, dass er die Schichten V und VI erreicht ohne Gefahr zu laufen, die weiße Substanz zu tangieren. Dies würde dazu führen, dass vorbeiziehende Axone unbekannter Herkunft und Zellen außerhalb des intrinsischen Netzwerkes gefärbt würden.

Bei vertikalen Schnitten wurde der Dil-Kristall mittig in die graue Substanz gesetzt und hatte dort am ehesten die Chance Schicht V direkt zu färben. Hierfür liegen jedoch keine quantitativen Untersuchungen vor.

2.3.7. Datenbearbeitung

Die Herstellung der Schnitte und die Montage der Zeichnungen in dem Computerprogramm „Neurolucida“ sind fehleranfällig. Daher müssen entsprechende Korrekturen vorgenommen werden.

Geweberekonstruktion: Schnitte werden beim Aufziehen unterschiedlich gestreckt, gestaucht, gepresst etc. Beim Zusammenbau der Schnittzeichnungen gibt es Schwierigkeiten, diese immer deckungsgleich zu bekommen. Um dies zu kontrollieren, werden Gewebemarkern (Alignmentpunkte) eingezeichnet (Blutgefäße vor allem), anhand derer Ortsgleichheit in zwei Schnitten überprüft werden kann. Beim Zusammenbauen der Schnittzeichnungen zu dem Gewebeblockchen kam es zu Fehlern im Bereich von bis zu 6 mm hinsichtlich solcher Alignmentpunkte, die durch die abweichende Lage der Schnitte auf den Objektträgern hervorgerufen wurden.

Es wurden daher die Gewebe nach den Alignment-Markern in passenden Gewebebereichen ausgerichtet und die Gewebebereiche der Zeichnung, die dann deutlich abwichen,

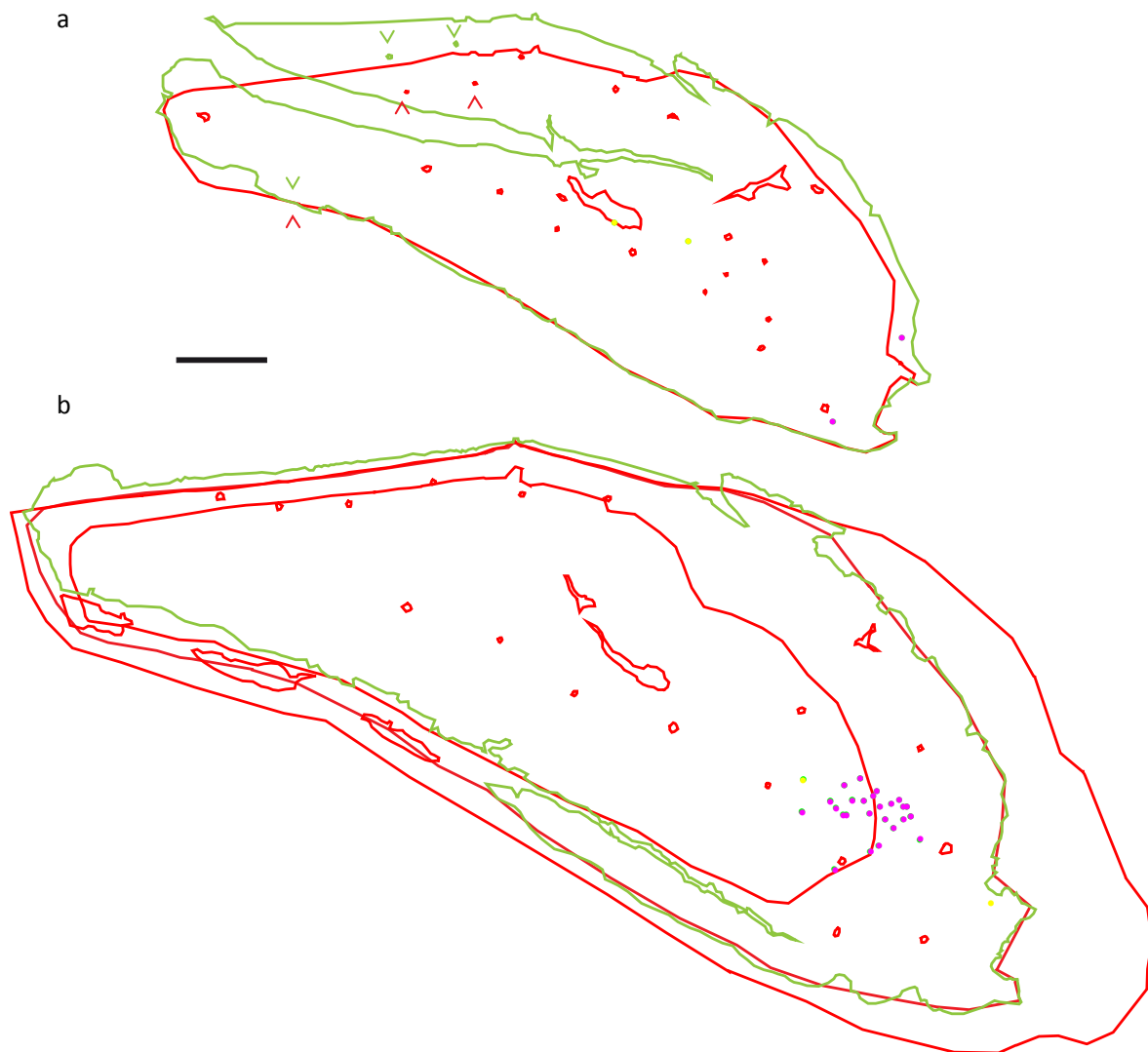


Abb. 25: Rekonstruktion der Gewebeschnittzeichnungen für die 3-D-Montage (serial section). Zunächst werden gerissene Schnitte anhand der Alignmentpunkte (Kontur, Blutgefäße, s. Pfeilköpfe) zusammengefügt (a), anschließend die Kontur anhand der Konturen des darüber und darunter liegenden Schnittes geglättet (b). Die originalen Zeichnungen sind in hellgrün, die rekonstruierten in Rot gezeichnet. Messbalken 1 mm.

um absolute Daten geht. Sollte dies für andere Zwecke erforderlich sein, so halte ich einen Korrekturfaktor für Entfernungsdaten von -10% für angemessen. (s. Abb. 26)

Konturangleichung: Um die Geweberekonstruktion übersichtlicher zu machen, wurden die Konturen untereinander angeglichen. Ausgehend vom untersten (größten) Schnitt und unter Beachtung der Kontur des folgenden Schnittes wurden die Angleichungen vorgenommen (s. Abb. 25). Der dadurch entstehende Fehler ist gering. Er konnte sich jedoch vereinzelt auf die Ermittlung des Z-Wertes einer randständigen Zelle auswirken (s.u.) und Z-Wert-Abweichungen in Einzelfällen bis zu zwei Schnittdicken (140 μm) bewirken.

Oben wurde darauf hingewiesen, dass der Kortex nicht als Gewebe eingeebnet wurde. Deshalb musste dies rechnerisch geschehen, damit die Tiefen- und Weitenwerte unterei-

nander vergleichbar wurden. Die Raumkoordinaten der Zellen, die das Programm „Neuro-lucida“ bereitstellt, wurden daher in zwei Schritten korrigiert⁴²:

Die Z-Werte des Programms NeuroLucida (NL) geben die Tiefenwerte eines Markers zu dem anfangs festgelegten Ausgangspunkt an, in diesem Fall die Oberfläche des obersten Schnittes. Die Tiefenwerte aller Marker, die unterhalb des ersten Schnittes liegen, entsprechen den tatsächlichen Tiefenwerten im Gewebe. Für alle außerhalb des ersten Schnittes liegenden Zellen müssen die Z-Werte korrigiert werden und zwar um den Betrag, der zwischen Nullpunkt der Messung und Oberfläche des jeweiligen Gewebebereichs liegt.

Um also den Kortex in situ einzuebnen, wurden die Tiefenwerte der Randbereiche der Schnitte, die vom darüber liegenden Schnitt nicht bedeckt wurden, um die Dicke des Schnittes verringert. Allgemein gesprochen wurden die Tiefenwerte (Z-Werte) der Zellen korrigiert, indem der Betrag zwischen oberstem Messpunkt des Programms (hier „0“) und dem Tiefenwert der Oberfläche des Gewebes über der Zelle von dem Tiefenwert der Zelle subtrahiert wurde.

Die Höhe (geometrische Größe) des durch Z-Wert und Randabstand des Zellmarkers gebildeten rechtwinkligen Dreieckes gibt näherungsweise die reale Tiefe der Zelle im Gewebe (gemessen von der Oberfläche des Gewebes) an. Durch eine einfache geometrische Berechnung mit Hilfe des Satzes des Pythagoras und des Höhensatzes in rechtwinkligen Dreiecken wurde die Tiefe der Zelle zur Gewebeoberfläche bestimmt. Damit geben nach dieser Korrektur alle Z-Werte direkt die tatsächliche Tiefe der Zelle von der Gewebeoberfläche an. Für alle Zellen ist der oberste Messpunkt die Oberfläche des Gewebes und damit der Kortex rechnerisch eingeebnet.

Bei einer Einebnung des Kortex würden sich jedoch auch die X- und Y-Koordinaten verändern, die durch die zweite Korrektur ebenfalls trigonometrisch ermittelt wurden. Details finden sich im Anhang 42.

Die Näherungswerte erlauben eine Verbesserung der Daten im Sinne einer Realitätsangleichung. Beim ersten Schritt können bei steilen Gewebeabschnitten aufgrund der vorgenommenen Konturangleichungen die Z-Werte zu stark oder zu wenig reduziert werden. Abhilfe hierfür ist schwer möglich, da sowohl die Schnittekombination der Originalschnittzeichnungen als auch die konturkorrigierte Fassung ähnlich große Fehler aufweisen können. Man müsste jede einzelne Zelle überprüfen, was durch die geringe Zahl an lokalen Alignmentmarkern praktisch unmöglich ist. Den Fehler in Höhe von maximal 140 µm halte ich für hinnehmbar, weil er nur einzelne Zellen betrifft und damit die Größenordnung der Daten (z.B. bei der Schichtzuordnung) nicht wesentlich verändert. Allenfalls die Zuordnung zur Schicht I könnte u.U. eine deutlichere Ungenauigkeit erfahren haben. Diese zellarme Schicht hat jedoch für die Interpretation der Daten keine Auswirkungen.

Damit war die Möglichkeit gegeben, die tatsächlichen räumlichen Verhältnisse der intrinsischen Verbindungen in den Kortexschichten näherungsweise in den vorzunehmenden Analysen abzubilden (s. statistische Auswertung).

⁴² S. nähere Angaben im Anhang 42: Errechnung der Kortexeinebnung

2.3.8. Statistische Bearbeitung und Auswertung

Die Software Neurolucida bietet die Möglichkeit, die Zeichnungen anhand der Raumkoordinaten der gesetzten Konturen und Marker quantitativ auszuwerten. Ergänzt wurden diese Analysen durch Matlab-Programme.

In der Software „Neurolucida“ kann die Entfernung direkt gemessen oder mit Hilfe der Zellmarker-Koordinaten errechnet werden. Die Entfernung der retrograd gefärbten Zellen zum Zentrum der Farbinjektionsstelle wurde mittels der „Locusanalyse“ im Neurolucida Explorer errechnet und statistisch ausgewertet.

Kortex- und Schichtdicken

Für die Frage der Zuordnung der Zellen zu den Kortexschichten musste die Kortexdicke sowie die Dicken der einzelnen Kortexschichten ermittelt werden. Dies war durch eine direkte Messung nicht möglich und musste daher aus indirekten Messdaten erschlossen werden. Zwei Datenquellen können herangezogen werden:

Messungen an Nissl-Schnitten, die an einem benachbarten Teil des untersuchten Gewebes (s. Abb. 26, unterer Teil) vorgenommen werden. Da diese in der Regel die Kortexschichten nicht exakt senkrecht schneiden und die Schnitte durch die Nissl-Färbung in der Regel eine doch deutliche Schrumpfung zeigen (s.u.), wurden die absoluten Werte in Prozentwerte für die Schichtdicken bezogen auf die jeweils gemessene Kortexgesamtdicke umgewandelt. Deren arithmetische Mittel wurden der Schichteinteilung für die Zelldaten zugrunde gelegt (Tab. in Abb. 27)⁴³.

Um die Prozentwerte auf die vorhandenen Daten der Neurolucidazeichnungen anwenden zu können, musste eine numerische Kortexdicke festgelegt werden. Hier gaben die gemessenen und korrigierten Tiefenwerte der Zellmarker die Orientierung. Für die absolute Schichtdicke des untersuchten Kortex wurde eine realitätsnahe Schichtdicke von 3500 μm festgelegt, die sich an der Lage der überwiegenden Mehrzahl der Zellen orientiert (s. Abb. 27).

Die wenigen größeren Tiefenwerte wurden als Extremwerte angesehen, deren Berücksichtigung das Ergebnis mit Sicherheit verzerrt hätte. Der Wert 3500 ist ein Wert, der auch von anderen Forschern angegeben wird. Economo etwa ordnet 3400 μm der Dicke der Windungswand (im Gegensatz zu 4100 μm für die Windungskuppe) (Economo 1925) zu, die dem hier untersuchten Gebiet entspricht (s. Abb. 27 und Anhang 43).

Diese Festlegung der Kortexdicke des primären Motorkortex auf 3500 μm erscheint realistisch angesichts von Werten zwischen 2600 und 3700 μm (max 5000 μm) in der Literatur. Die eigenen Kortexdickenmessungen zeigen jedoch nur einen Wert über 3000 μm , alle anderen liegen z.T. deutlich darunter. Das arithmetische Mittel (2442 μm) liegt um ca. 30 % niedriger als der gesetzte Wert von 3500 μm . Diese Größenordnung passt jedoch zu der Tatsache, dass durch das Nissl-Färbeverfahren die Gewebe schrumpfen. In der Literatur wird eine Größenordnung von 12-33% angegeben (Schuz and Palm 1989). Der jetzt hier gesetzte Wert von 3500 μm mag etwas zu groß sein, jede andere Setzung wäre jedoch

⁴³ Datentabellen s. Anhang 43

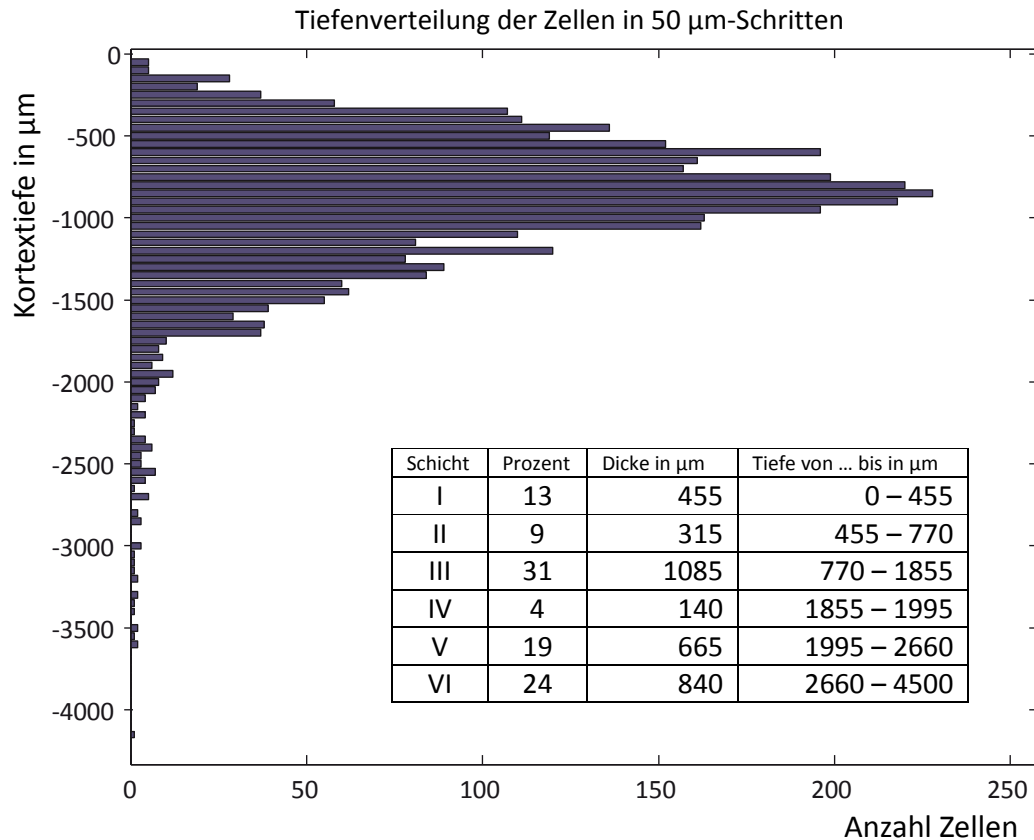


Abb. 27: Verteilung der Zellen in der Kortextiefe.

Histogramm der Tiefenverteilung der Zellen, jeweils in 50µm-Schritten. Der 0-Wert der Ordinate gibt die Gewebeoberfläche an, die negativen Werte darunter die Tiefe im Gewebe, gemessen von der Oberfläche des rechnerisch eingeebneten Kortex. Es ist eine deutliche Konzentration der Zellen bis etwa 1700µm festzustellen, was den Schichten II und III entspricht. Eingefügt ist die Tabelle der Einteilung der Kortexschichten für die Datenanalyse.

willkürlich gewesen. Das von Economo angegebene Verhältnis von äußeren (I – III) zu inneren Schichten (IV – VI) von 53 : 47 für die Windungswand des Motorkortex ist eingehalten (Von Economo and Koskinas 1925).

Anhand der festgelegten Kortexdicke wurden nun die Dicken der einzelnen Schichten anhand der obigen Prozentwerte errechnet.

In die Schicht VI wurden alle Zellen unterhalb der Schicht V aufgenommen. Die Vergleichswerte zeigen eine deutliche Varianz. In den Schichten I und II liegen die eigenen Messwerte jedoch stets darüber.

Auch wenn man keine Sicherheit hat, wie die tatsächlichen Verhältnisse im untersuchten Gewebe sind, können die so festgelegten Werte als begründete Näherungswerte angesehen werden.

Shollanalysen der Entfernungsdaten

Zwei wichtige Einschätzungen des intrinsischen Netzwerkes sind vorzunehmen: die horizontale Ausdehnung und die Schichtzuordnung des Netzwerkes. Die horizontale Ausdehnung kann direkt an den Entfernungen von Patches und Zellen zum Injektionsmittelpunkt abgelesen werden. Um ein differenzierteres Bild zu zeichnen, wurden diese Daten Shollanalysen (Sholl 1953) unterzogen, um die quantitative Verteilung der Zellen in Abhängigkeit von der Entfernung abzubilden. Hierfür wurden verschiedene Shollringbreiten

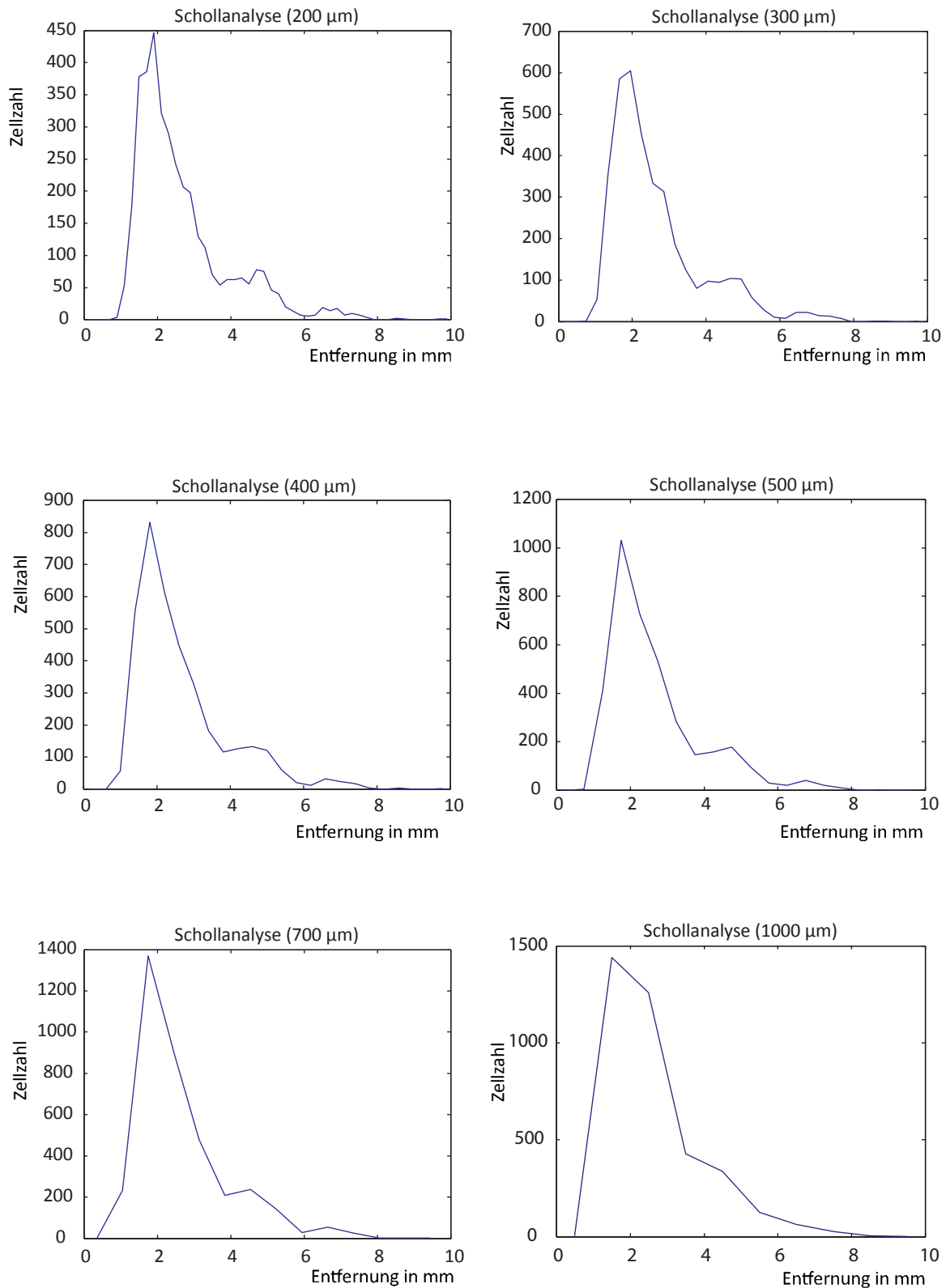


Abb. 28: Entfernung der Zellen vom Injektionsmittelpunkt - Schollringbreitenwahl.

Wiedergegeben sind Schollanalysen mit verschiedenen Ringbreiten normiert an der Gesamtzellzahl. Sie zeigen die unterschiedlich feine Datendarstellung, die sich bei schmalen Ringbreiten der Einzeldatendarstellung nähert, während sie bei breiten ggf. Trends anzeigen. Bei dieser Auswahl der Schollringbreiten scheint die Wahl relativ willkürlich, weil bis auf die 1000 µm Schollringbreite in jeder Grafik die Verteilung der Zellen mit drei Maxima wiedergegeben wird. Weitere Vergleiche, normiert an den Schichten und den Schollringen, finden sich im Anhang 44 Abb. 101-103. Die Wahl fiel auf eine 400 µm Schollringbreite, die für die Darstellung der Ergebnisse ausreichend detailreich ist und zugleich Trends deutlich herausarbeitet.

gewählt. Schmale Shollringbreiten geben ein genaues Bild der entfernungsabhängigen Zellverteilung, die nahe an die Einzelzellverteilung heranreichen kann. Größere Breiten überlagern diese Details zugunsten von Trends. Es gilt eine Darstellung zu wählen, die detailliert genug ist und dennoch verallgemeinernde Aussagen verdeutlicht. Für die Darstellung der Ergebnisse fiel die Wahl auf eine Shollringbreite von 400 μm , die diesem Anspruch genügt. Weitere Vergleiche finden sich im Anhang (44).

Anhand der Schichteinteilung konnten die Daten in weiteren Shollanalysen untersucht werden. Dazu wurden die Daten auf unterschiedliche Bezugsgrößen normiert. Shollanalyse der Schichten,

normiert auf alle Zellen, um zu erkennen, welche Schichten vor allem das Netzwerk tragen,

normiert auf die jeweilige Schicht, um zu erkennen, wie sich die Zellverteilung innerhalb einer Schicht in Abhängigkeit von der Entfernung verhält,

normiert auf den jeweiligen Shollringen, um die Relation der Zellverteilung zwischen den Schichten in Abhängigkeit von der Entfernung erkennen zu können.

Auch hier wurden für die Entfernungsanalysen Shollringbreiten von 400 μm gewählt, andere Breiten sind zum Vergleich im Anhang wiedergegeben⁴⁴.

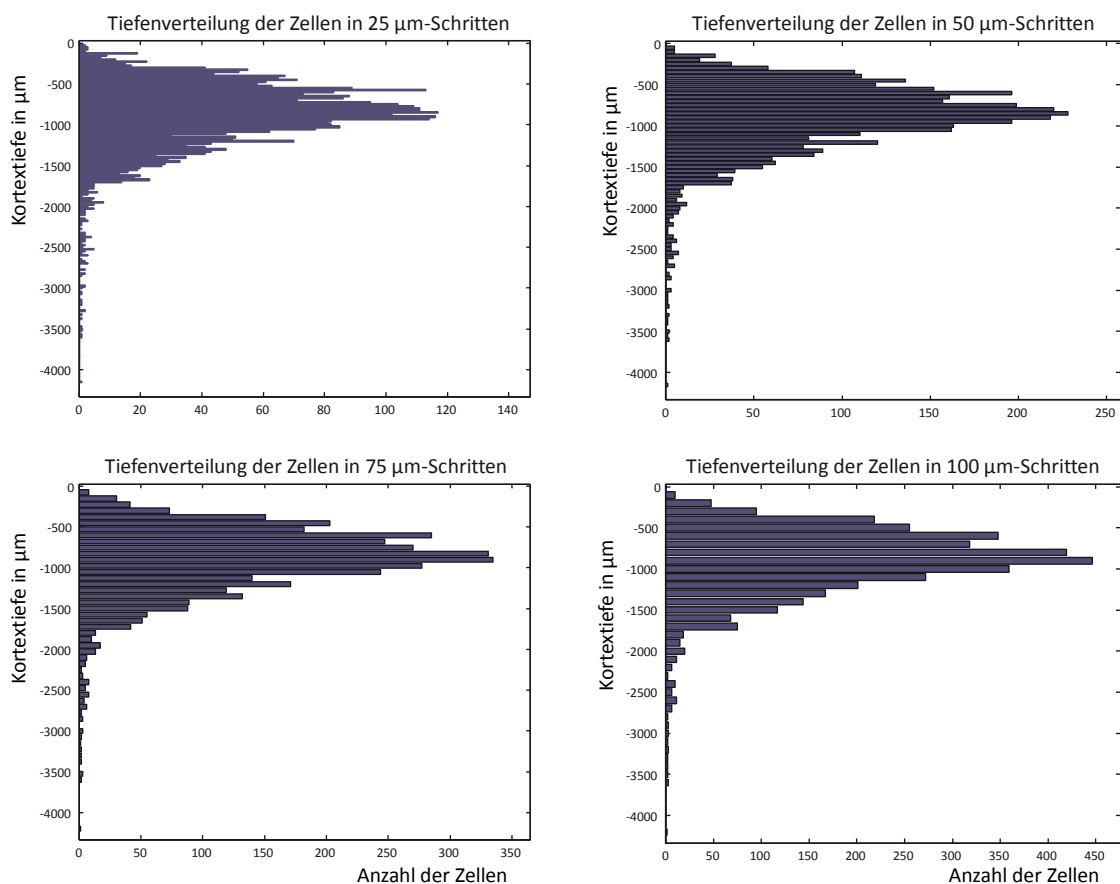


Abb. 29: Zellverteilung in der Tiefe

Für die Darstellung der Verteilung der Zellen in der Kortextiefe wurden die Zellen in Schichten unterschiedlicher Dicke summiert. Hier fiel die Wahl aufgrund der gleichen Erwägungen wie oben auf eine Schichtdicke von 50 μm .

⁴⁴ S. Anhang 44: Shollanalysen normiert auf Schicht und Shollring mit verschiedenen Shollringbreiten.

Tiefenverteilung der Zellen

Für die Verteilung der Zellen in der Kortextiefe gilt sinngemäß das für die Shollringbreiten Gesagte. Es wurde ein ähnliches Verfahren gewählt, indem die Zellen in Schichten unterschiedlicher Dicke summiert wurden. Hier fiel die Wahl auf eine Schichtdicke von 50µm. Das entspricht in etwa der doppelten Zellkörpergröße von durchschnittlichen Pyramidenzellen der Schicht III.

Bei der Bearbeitung der Daten des prämotorischen Kortex wurden die weit entfernten Zellen einer nochmaligen Prüfung unterzogen. Bei diesen der Schicht I zuzuordnenden Zellen konnte eine Kontamination mit Farbstoffteilchen nicht ausgeschlossen, bei einigen jedoch nachgewiesen werden. Sie wurden daher aus der Betrachtung ausgeschlossen.

Patchiges Netzwerk

Um die patchige Erscheinung des intrinsischen Netzwerkes zu veranschaulichen, wurde eine Rasterung der gefärbten Gewebefläche vorgenommen und dadurch die Clusterung der Zellverteilung sichtbar gemacht. Die Rastergröße wurde auch hier variiert. Zu große Rastereinheiten lassen den patchigen Eindruck verschwimmen, zu kleine Einheiten nähern sich dem Bild der Zellverteilung an, die den Patchcharakter vermuten lässt, aber nicht visualisiert. Es ergab sich eine optimale Rastergröße von 250 µm, die etwas mehr als dem Drittel des durchschnittlichen Patchdurchmessers (~700 µm) entspricht (vgl. Kap. 3.4.1). Die Größenordnungsrelation entspricht analog der im Nyquist-Shannon-Abtasttheorem für die Nachrichtentechnik geforderten mindestens doppelten Abtastfrequenz zur Erfassung eines Signals ohne Informationsverlust (s. Abb. 30).

Ein zweiter Aspekt war die asymmetrische Verteilung der Zellen. Asymmetrisch bezeichnet hier die ungleichmäßige Verteilung der gefärbten Strukturen innerhalb des Areal und nicht die asymmetrische Verteilungen von Arealgrößen, Kortexdicken, Zellen u.a.m. zwischen den Hemisphären. Durch eine Polarstatistik wurde diese Asymmetrie zu erfassen gesucht, indem innerhalb von Segmenten von je 7,2 Grad die Zellen summiert wurden. Das arithmetische Mittel der Segmentmittelwerte markiert eine eventuelle Richtungsbevorzugung. Die Verteilung wurde mittels des statistischen Rayleigh-Tests für zirkuläre Datensätze gegenüber einer zufälligen Verteilung auf Signifikanz geprüft (Wilkie 1983) (s. Kap. 3.4.3.).

Konnektivität

Die für die Konnektivität des Netzwerkes bedeutsame Verteilung der Boutons hinsichtlich Entfernung von der Injektionsstelle und Tiefe im Kortex wurde statistisch ausgewertet und mit Hilfe des Wilcoxon-Test (rank sum test) für ähnliche Mittelwerte und des Kruskal-Wallis-Tests für nicht normalverteilte Datensätze auf Signifikanz geprüft.

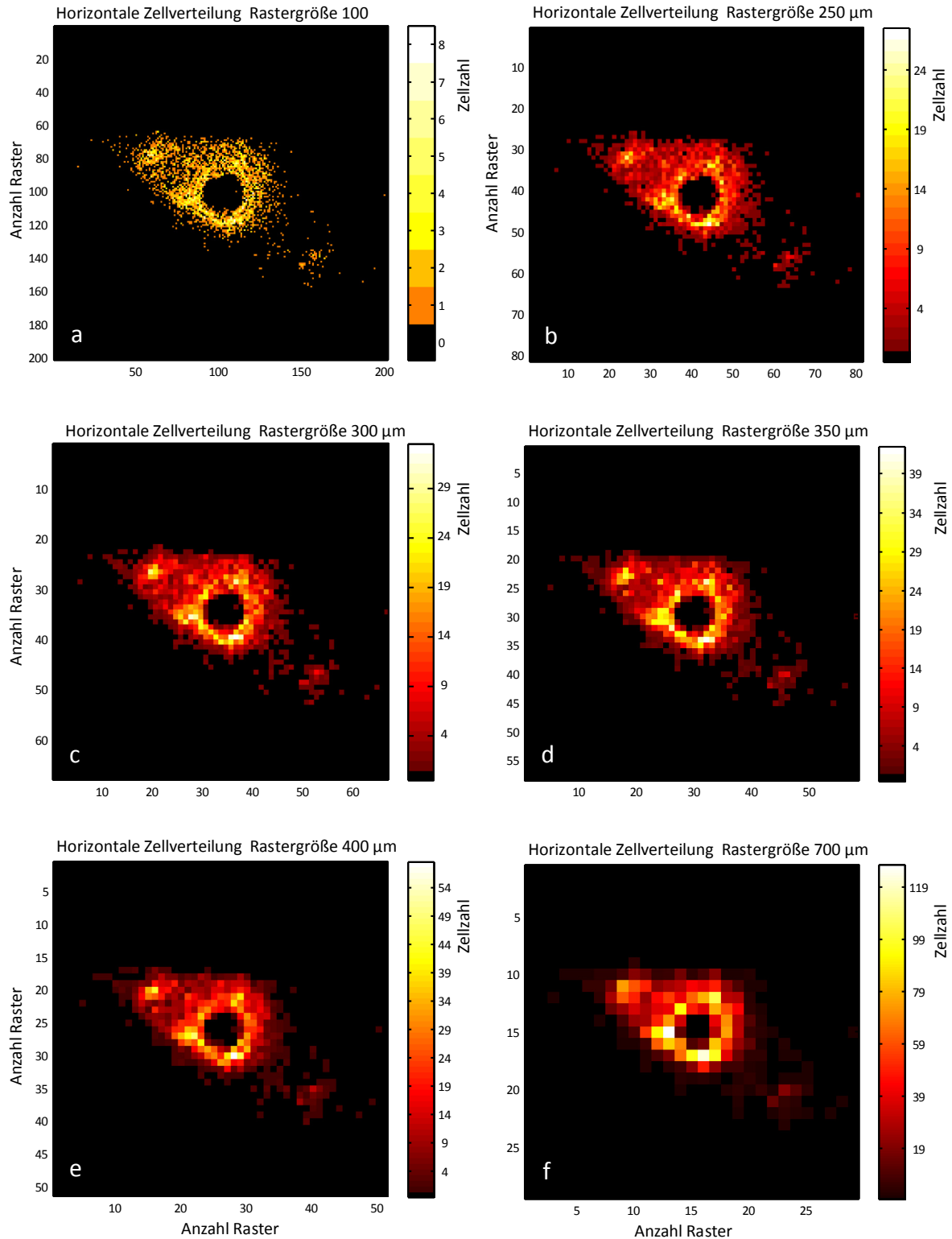


Abb. 30: Wahl der Rasterung des Zellverteilungsfeldes

Die Bilder veranschaulichen die patchige Erscheinung des intrinsischen Netzwerkes durch Rasterung des Zellverteilungsfeldes. Die Rastergröße wurde variiert. Zu große Rastereinheiten (f) lassen den patchigen Eindruck verschwimmen, zu kleine Einheiten nähern sich dem Bild der Verteilung der Einzelzellen an (a), die den Patchcharakter vermuten lässt, aber nicht visualisiert. Es ergab sich eine optimale Rastergröße von 250 μm (b), die etwas mehr als dem Drittel des durchschnittlichen Patchdurchmessers ($\sim 700 \mu\text{m}$) entspricht und damit eine optimale Wiedergabe der geclusterten Zellverteilung gewährleistet.

Präsentationen

Die Daten wurden mit den Programmen Microsoft Office Excel, MatlabVersion 7.10.0.499 (R2010a) (The MathWorks, Inc.) und Neurolucida / NeurolucidaExplorer (NL 10, MBF Bioscience, Williston) grafisch aufbereitet. Für die Präsentation der Bilder der Mikroskop-kameras, Zeichnungen, Grafiken und Tabellen wurden die Programme Photoshop (PS), Canvas und Illustrator (AI) in der jeweils neuesten Fassung (Adobe PhotoShop (PS 5.5 – CS4) und Adobe Illustrator AI 5 + 6, Adobe Systems, Kalifornien ; ACD Systems International Inc. (Deneba Systems) Canvas 7- X) eingesetzt. Der Text wurde mit Microsoft Office WORD 2010 erstellt und als Pdf gespeichert.

Allgemeine Aspekte von Speziesvergleichen

Die Übertragbarkeit von Ergebnissen auf andere Spezies ist nur begrenzt möglich und nur im Rahmen von Arbeitshypothesen sinnvoll. Andererseits können aufgrund der evolutiven Entstehung prinzipielle Ähnlichkeiten als homologe Strukturen interpretiert werden (Homologiekriterien). Gleichwohl kommt auch diese Sicht nicht umhin konvergente Entwicklungen und Funktionswechsel zu reflektieren und auszuschließen. In dieser Arbeit dienen die Vergleiche der Ergebnisse mit denen anderer Spezies der Datensichtung und Modell-anregung.

3. Ergebnisse

3.1. Übersicht: Die intrinsische Konnektivität im Motorkortex

Die Untersuchung der lokalen Verbindungsstrukturen im primären Motorkortex des Menschen konnte durch Verwendung des Farbstoffes Dil ein diskontinuierliches Netzwerk von

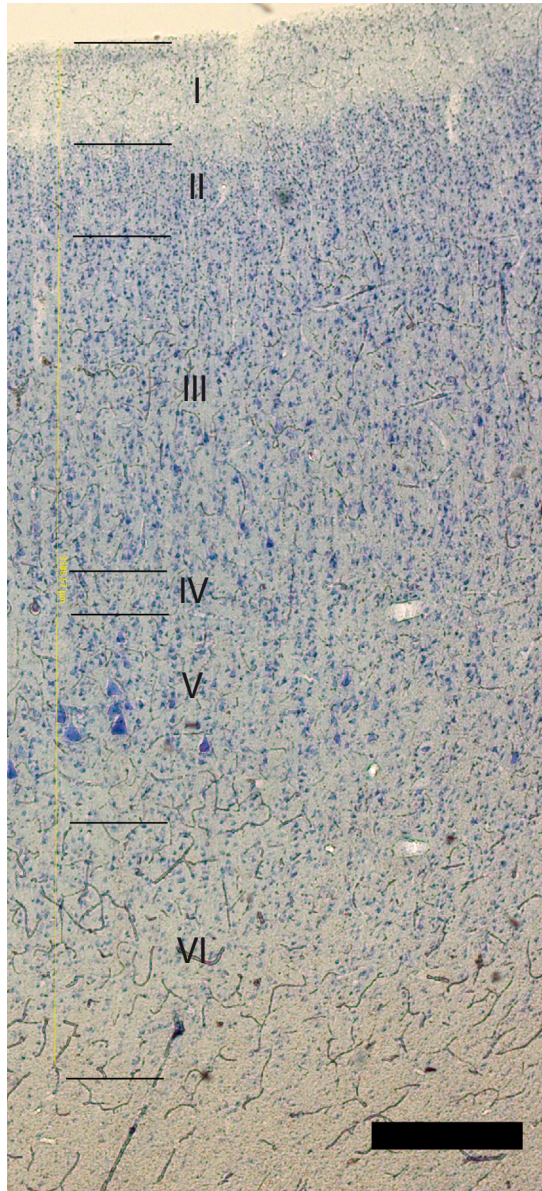


Abb. 31: Bestätigung des primären Motorkortexareals (BA 4) anhand eines Nissl-gefärbten Schnittes. Die römischen Zahlen zeigen die Kortexschichten an. In Schicht V sind deutlich die großen Riesenpyramidenzellen zu erkennen, die das Gewebe als primären Motorkortex ausweisen. Die gelbe Linie ist eine Messung der Kortexdicke von rund 3400 μm . Messbalken = 500 μm

gefärbten Zellen, Dendriten und Axonen aufweisen, dessen Neurone vereinzelt oder in Gruppen vorliegen und weitreichende intrinsische Verbindungen haben. Die Neurone bzw. Neuronengruppen sind im Umkreis von über einem Zentimeter um einen Bezugspunkt, die Injektionsstelle des Dil-Farbkristalls, verteilt. Die intrinsischen Verbindungen zum somatosensorischen und prämotorischen Areal gehen kontinuierlich ineinander über.

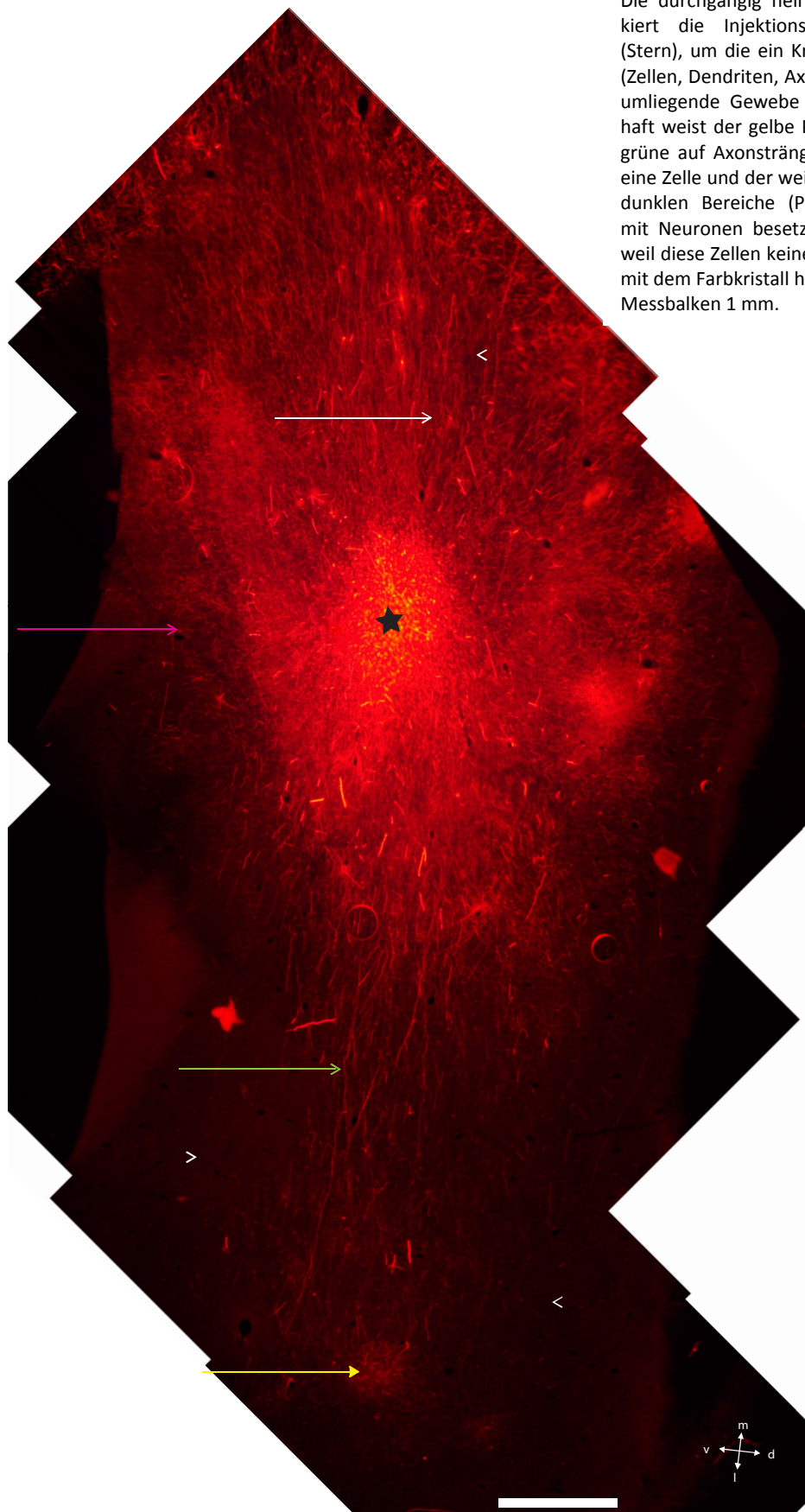
Der Arealnachweis für den primären Motorkortex wurde anhand von Nissl-Schnitten geführt (s. Abb. 31). Die römischen Zahlen zeigen die Kortexschichten an. In Schicht V sind deutlich die großen Riesenpyramidenzellen zu erkennen, die das eindeutige Merkmal dieses Areals sind. Für die einzelnen Gewebe befinden sich im Anhang die entsprechenden Untersuchungsbefunde⁴⁵.

3.2. Das horizontale Erscheinungsbild der intrinsischen Verbindungen

Die in den Gewebeschnitten (s. Abb. 32) sichtbar werdenden intrinsischen Verbindungen bilden ein Netzwerk, das daran zu erkennen ist, dass die Strukturen (vor allem Neurone, Dendriten, Axone) selektiv gefärbt werden und durch ungefärbte Bereiche voneinander getrennt sind. Da der Farbstoff die wässrige Phase zwischen Neuronen nicht passiert, kann man davon ausgehen, dass alle gefärbten Zellen Kontakt zu dem Farbkristall haben. Somit kann eine direkte Verbindung aller gefärbten Neurone (Fortsetzung S. 60)

⁴⁵ S. Anhang 45

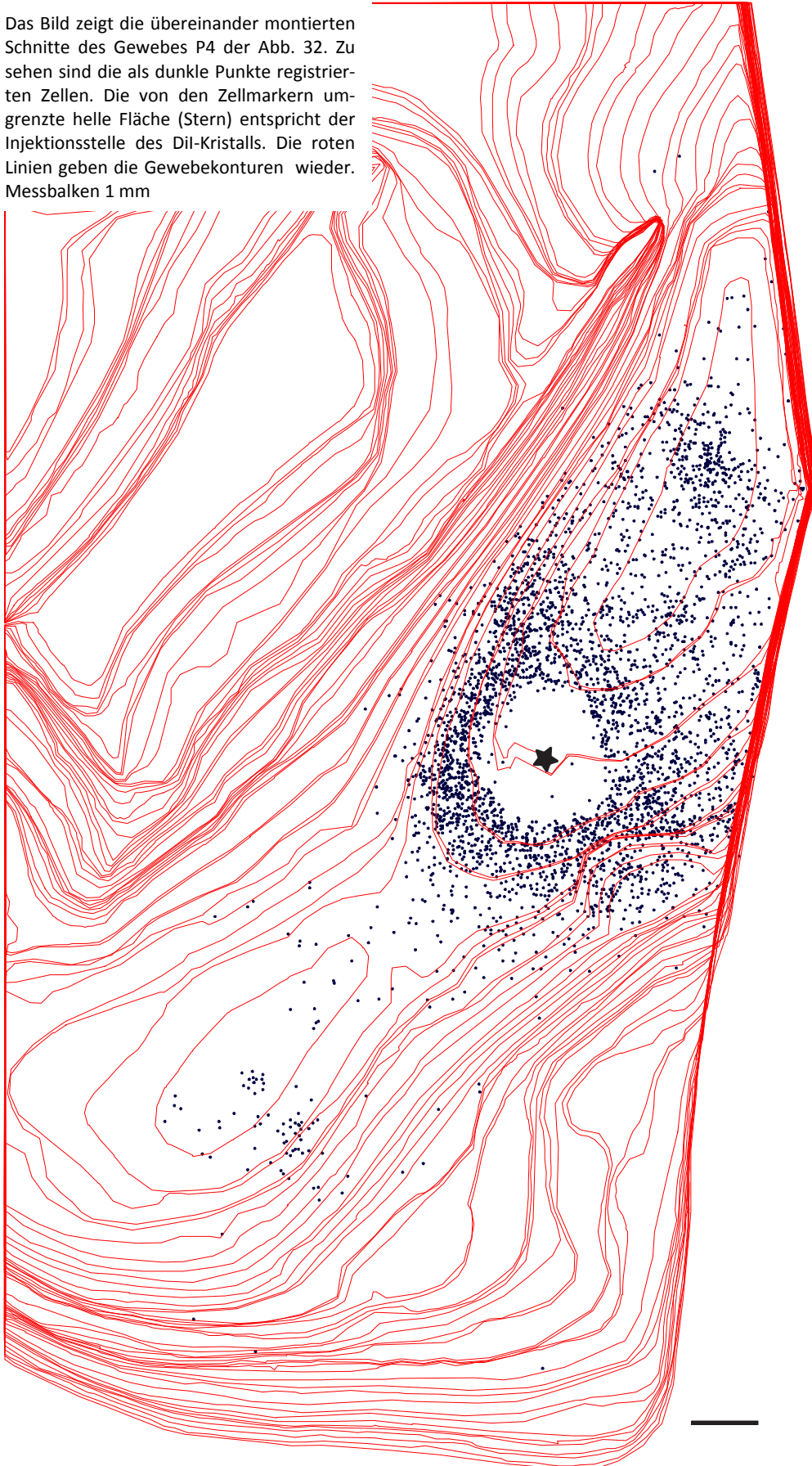
Abb. 32: Übersicht über eine Dil-Injektionsstelle in einem Gewebeschnitt (P4).



Die durchgängig hell leuchtende Fläche markiert die Injektionsstelle des Farbkristalls (Stern), um die ein Kranz gefärbter Strukturen (Zellen, Dendriten, Axone) liegt, die weit in das umliegende Gewebe ziehen (Pfeile). Beispielsweise weist der gelbe Pfeil auf einen Patch, der grüne auf Axonstränge, der rosarote Pfeil auf eine Zelle und der weiße auf Dendriten hin. Die dunklen Bereiche (Pfeilköpfe), obwohl dicht mit Neuronen besetzt, werden nicht gefärbt, weil diese Zellen keinen unmittelbaren Kontakt mit dem Farbkristall haben. Messbalken 1 mm.

Abb. 33: Geweberekonstruktion (P4) anhand der Schnittzeichnungen

Das Bild zeigt die übereinander montierten Schnitte des Gewebes P4 der Abb. 32. Zu sehen sind die als dunkle Punkte registrierten Zellen. Die von den Zellmarkern umgrenzte helle Fläche (Stern) entspricht der Injektionsstelle des Dil-Kristalls. Die roten Linien geben die Gewebekonturen wieder. Messbalken 1 mm



Neurone und ihrer Strukturen mit dem Ort des Farbkristalls als gegeben angenommen werden. Die einzelnen Schnitte wurden zeichnerisch dokumentiert, indem die Kontur, die Neurone sowie Gewebekennzeichen (Alignment), vor allem Blutgefäße, registriert wurden. Die Montage aller Schnittzeichnungen ergab die Abbildung 33.

Die Abbildungen 32 und 33 zeigen eine Verteilung der Neurone, die durch Verdichtungen und Ausdünnungen gekennzeichnet ist. In Vertikalschnitten (s.u.) sieht sie „wolkig“ aus und wird in der Literatur als „patchig“ beschrieben. Die Axone, die als Faserstücke in den Schnitten zu sehen sind, scheinen diffus über die gefärbte Fläche verteilt zu sein.

Nahezu ausschließlich wurden Pyramidenzellen gefärbt. In Schnitten senkrecht zur Kortexoberfläche sind sie durch ihren pyramidenförmigen Zellkörper von 20 - 70 μm Durchmesser, dem Apikaldendriten und den sich horizontal verzweigenden Basaldendriten gekennzeichnet (Abb. 34 a). In Horizontalschnitten ist der meist etwas eckige Zellkörper mit den abgehenden Basaldendriten typisch (Abb. 34 b-d, s.a. Abb. 37).

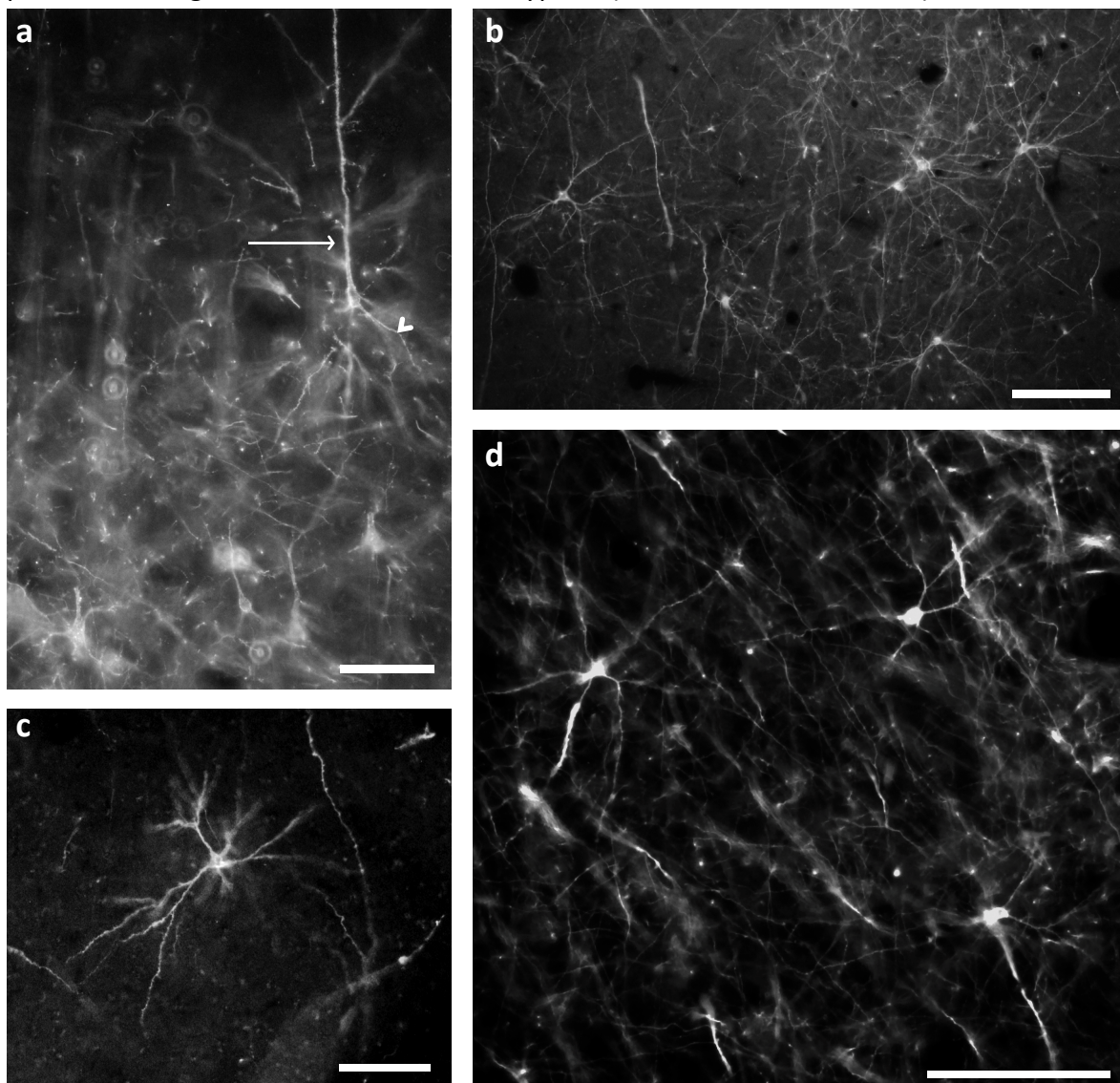
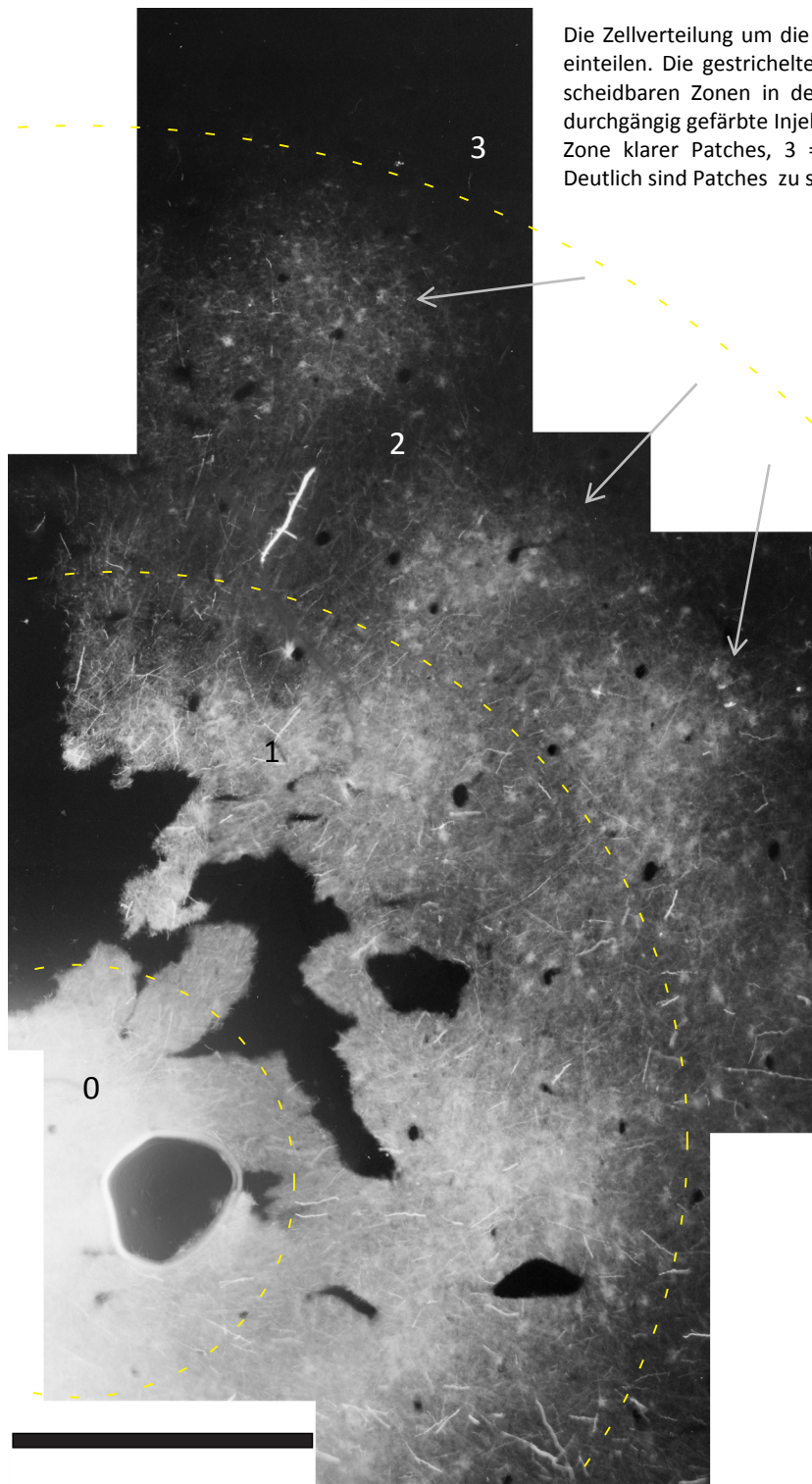


Abb. 34: Pyramidenzellen

(a) Pyramidenzellen aus der Schicht III eines Vertikalschnittes. Der Pfeil weist auf den Apikaldendriten, der Pfeilkopf auf einen Basaldendriten. (b-d) Pyramidenzellen aus der Schicht III von Horizontalschnitten. Die von den Zellkörpern abgehenden Dendriten sind Basaldendriten, die sternförmig abzweigen und horizontal ins Gewebe ziehen. Messbalken Bild a, b + c: 100 μm , Bild d: 200 μm .

3.2.1. Zellverteilung

Abb. 35: Zonen der Zellverteilung



Die Zellverteilung um die Injektionsstelle lässt sich in Zonen einteilen. Die gestrichelten Linien geben in etwa die unterscheidbaren Zonen in der Verteilung der Färbung an: 0 = durchgängig gefärbte Injektionsstelle, 1 = gefärbtes Band, 2 = Zone klarer Patches, 3 = Peripherie mit Einzelstrukturen. Deutlich sind Patches zu sehen (Pfeile). Messbalken: 1 mm.

Die Zellverteilung ist ungleichmäßig und lässt sich in folgende Zonen gliedern:

Abgesehen von der durchgängig gefärbten Injektionsstelle selbst lassen sich drei Bereiche erkennen, in denen eine Häufung der Zellzahlen zu verzeichnen ist (s. Abb. 36):

- Der hell erscheinende Ring (1) gefärbter Zellen (und Dendriten sowie Axone) um die Injektionsstelle (vgl. „Halo“ S. 395 bei (Huntley and Jones 1991)),
- das relativ dichte Band (2) von gefärbten Patches im mittleren Bereich, die sich aber mehr oder minder klar voneinander trennen lassen, sowie
- die vereinzelt Patches, Zellen und Axone im Peripheriebereich (3).

Eine Shollanalyse aller Zellen weist eine ähnliche Dreigliedrigkeit in der Häufigkeit der Zellen im Abstand von 2, 5 und 7 mm zur Injektionsstelle und zugleich ein Abnahme der Zellzahl zur Peripherie hin auf. Eine Shollringbreite von 400 μm zeigt diesen Sachverhalt sehr deutlich (s. Abb. 36).

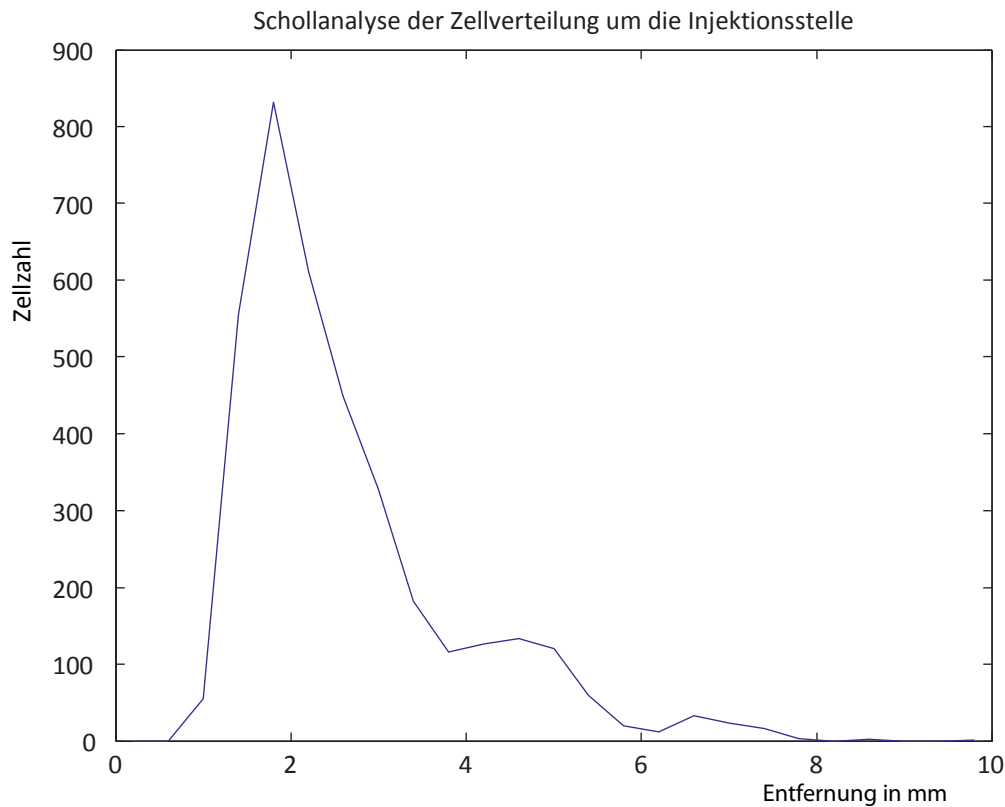


Abb. 36: Schollanalyse der Zellverteilung um die Injektionsstelle.

Die Zellhäufigkeitsverteilung in Abhängigkeit von der Entfernung von der Injektionsstelle anhand einer Schollanalyse zeigt eine dreigipflige Verteilung im Abstand von 2, 5 und 7 mm. Die Maxima nehmen in der Höhe zur Peripherie hin sehr stark ab.

Schollringbreite 400 μm

Der Abstand der entferntesten Zelle zur Injektionsstelle betrug 12 mm. Die in mehreren Schnitten gemessenen Abstände zur jeweils entferntesten Zelle ergaben folgende Einzelwerte:

Zellabstände zur Injektionsstelle gesamt

Gewebe	Zellanzahl	Durchschnitt der Entfernung in mm	entfernteste Zelle in mm	Tiefen-Wert (Z) entfernteste Zelle in mm	Schicht entfernteste Zelle
P2, mC	686	3	11,526	-0,56	II
P4 mC	3688	2,7	10,189	-1,374	III
P2 smC	-	-	4,5	-1,4	III

Tab. 2: Abstand der entferntesten Zellen zur Injektionsstelle.

P = Gewebe (s. Tab. 1), mC und smC = motorischer Kortex und somatosensorischer Kortex. Die Z-Werte geben die Tiefe der Zellen im Kortexgewebe gemessen von der Oberfläche an.

3.2.2. Patches

Die in Erscheinung tretenden fleckartig oder wolkig gefärbten Bereiche, im Weiteren als „Patch“ bezeichnet, werden von retrograd gefärbten Zellen und deren Dendriten als auch anterograd gefärbten Axonen/Axonterminalen gebildet und heben sich durch das von ihnen bewirkte Neuropil vom dunklen Hintergrund ab. (s. Abb. 37 und 38)

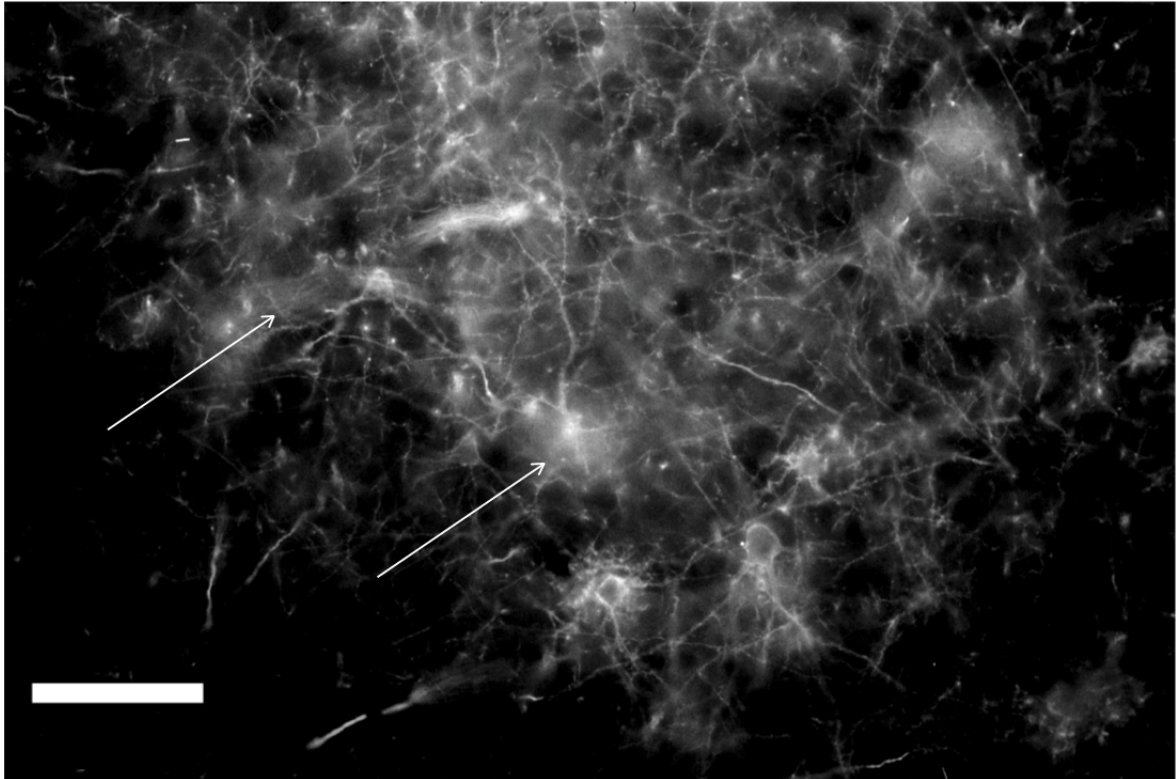


Abb. 37: Patch

Das Neuropil (Pfeile) eines Patches hebt sich deutlich vom Hintergrund ab. Es hat eine meist deutliche Ausdehnung und ist gegenüber dem dunklen Hintergrund mehr oder minder gut abgrenzbar. Messbalken 100 μm

Das Neuropil eines Patches (Pfeile) hebt sich deutlich vom Hintergrund ab. Es entsteht durch die Fluoreszenz der Zellen und des Dendriten-Axon-Geflechts. Es hat eine meist deutliche Ausdehnung und ist gegenüber dem dunklen Hintergrund mehr oder minder gut abgrenzbar.

Ein Patch (s. Abb. 38) ist durch Einzelzellen (rote Pfeile) in der Nachbarschaft von Axonen (graue Pfeile) gekennzeichnet, die eine reziproke Verbindungsstruktur vermuten lassen.

Mit dem Hinweis auf die asymmetrische Verteilung von Zellen und Patches um die Injektionsstelle (s.u.) ist die Beschreibung der horizontalen Erscheinungsform des intrinsischen Netzwerkes abgeschlossen.

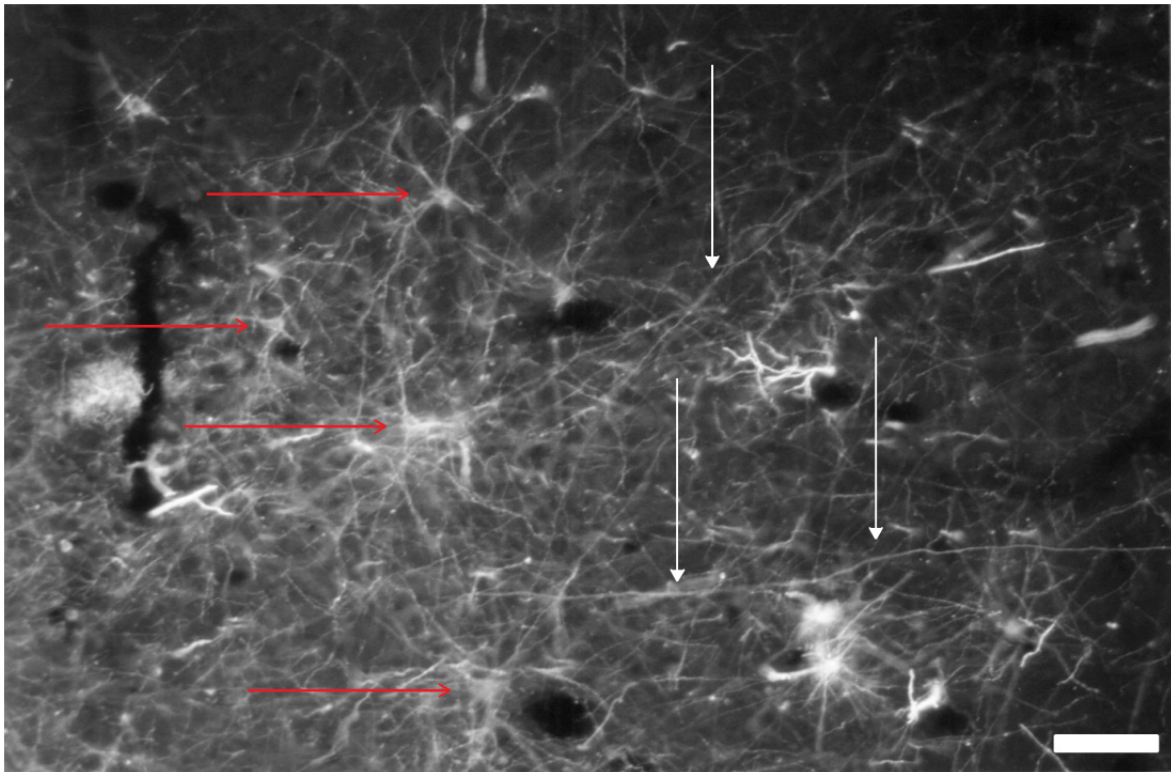


Abb. 38: Patch

Ein Patch ist durch Einzelzellen (rote Pfeile) in der Nachbarschaft von Axonen (weiße Pfeile) gekennzeichnet, die eine reziproke Verbindungsstruktur vermuten lassen. Messbalken 200 μm

3.3. Die Schichtzuordnung, das vertikale Erscheinungsbild

Insbesondere in den vertikalen Schnitten tritt die „wolkige“ Erscheinung der Patches klar hervor (s. Abb. 39). Die Zellen finden sich verstreut über die gesamten Kortexschichten allerdings mit einer deutlichen quantitativen Verteilung. Die Neurone häufen sich vor allem in den Schichten II und III sowie in geringerem Umfang in V und VI. Inwiefern Schicht IV ausgebildet ist oder nicht ist hier nicht von Belang, es zeigt sich in den Bildern auf jeden Fall eine mehr oder minder deutliche Zäsur zwischen der Neuronenhäufung in Schicht II und III und den Zellen in Schicht V und VI, die an den Tiefenwerten der Zellverteilung (vgl. Abb. 40) nicht abgelesen werden kann, mikroskopisch aber in dem dunklen Streifen in Höhe der Schicht IV in Erscheinung tritt.

Messungen der Kortexdicke der oberen Schichten I-III und der unteren Schichten IV – VI ergaben ein prozentuales Verhältnis von 63 : 37 der äußeren zu den inneren Schichten.

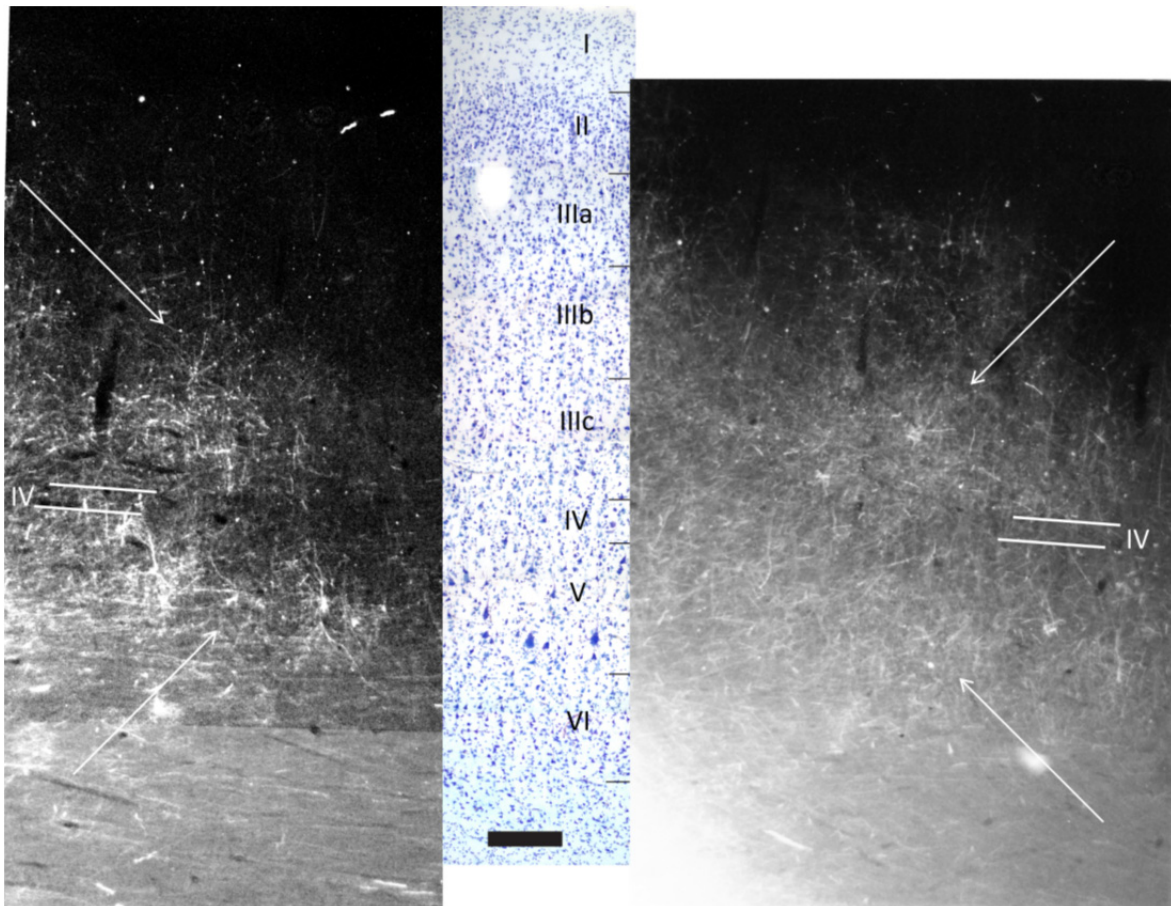


Abb. 39: Das vertikale Erscheinungsbild des intrinsischen Netzwerkes im primären Motorkortex.

Querschnitt durch den Kortex. Die Neuronen finden sich vor allem in den Schichten II und III sowie in geringem Umfang in V und VI (Pfeile). In Höhe der Schicht IV zeigt sich in den Bildern ein dunkler Streifen zwischen den Neuronenhäufungen in Schicht II und III und denen in Schicht V und VI. Zur Kontrolle der Schichten wurde ein nisslgefärbter Schnitt zugeordnet. Die römischen Zahlen kennzeichnen die Kortexschichten. Messbalken 200 μm , für alle Bilder.

Die Zellverteilung in der Tiefe zeigt ein ähnliches Bild und weist bei einer Summation der Zellen alle 50 μm folgende Verteilung auf (s. Abb. 40)⁴⁶.

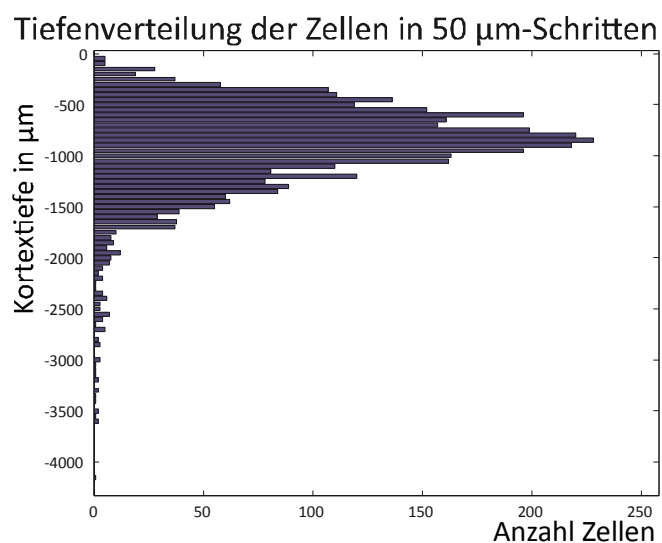


Abb. 40: Verteilung der Zellen in der Kortextiefe. Histogramm der Tiefenverteilung der Zellen, jeweils in 50 μm -Schritten. Der 0-Wert der Ordinate gibt die Gewebeoberfläche an, die negativen Werte darunter die Tiefe im Gewebe, gemessen von der Oberfläche des rechnerisch eingeebneten Kortex. Es ist eine deutliche Konzentration der Zellen bis etwa 1700 μm festzustellen, was den Schichten II und III entspricht. Die in den Bildern deutlich werdende Zäsur zwischen den Schichten II/III und V/VI (vgl. Abb. 39) kann dem Histogramm nicht entnommen werden.

⁴⁶ Eine ähnliche Verteilung fand sich in anderen Geweben, s. Anhang A 46

3.4. Analyse des Erscheinungsbildes des intrinsischen Netzwerkes

Interessant erscheint in einem ersten Schritt die Frage, wie die Zellverteilung genauer charakterisiert werden kann, vertikal wie horizontal. Hierzu wurden Shollanalysen der Daten des Gewebes P4 vorgenommen (s. Abb. 41).

Schollanalyse der Zellverteilung in den Schichten

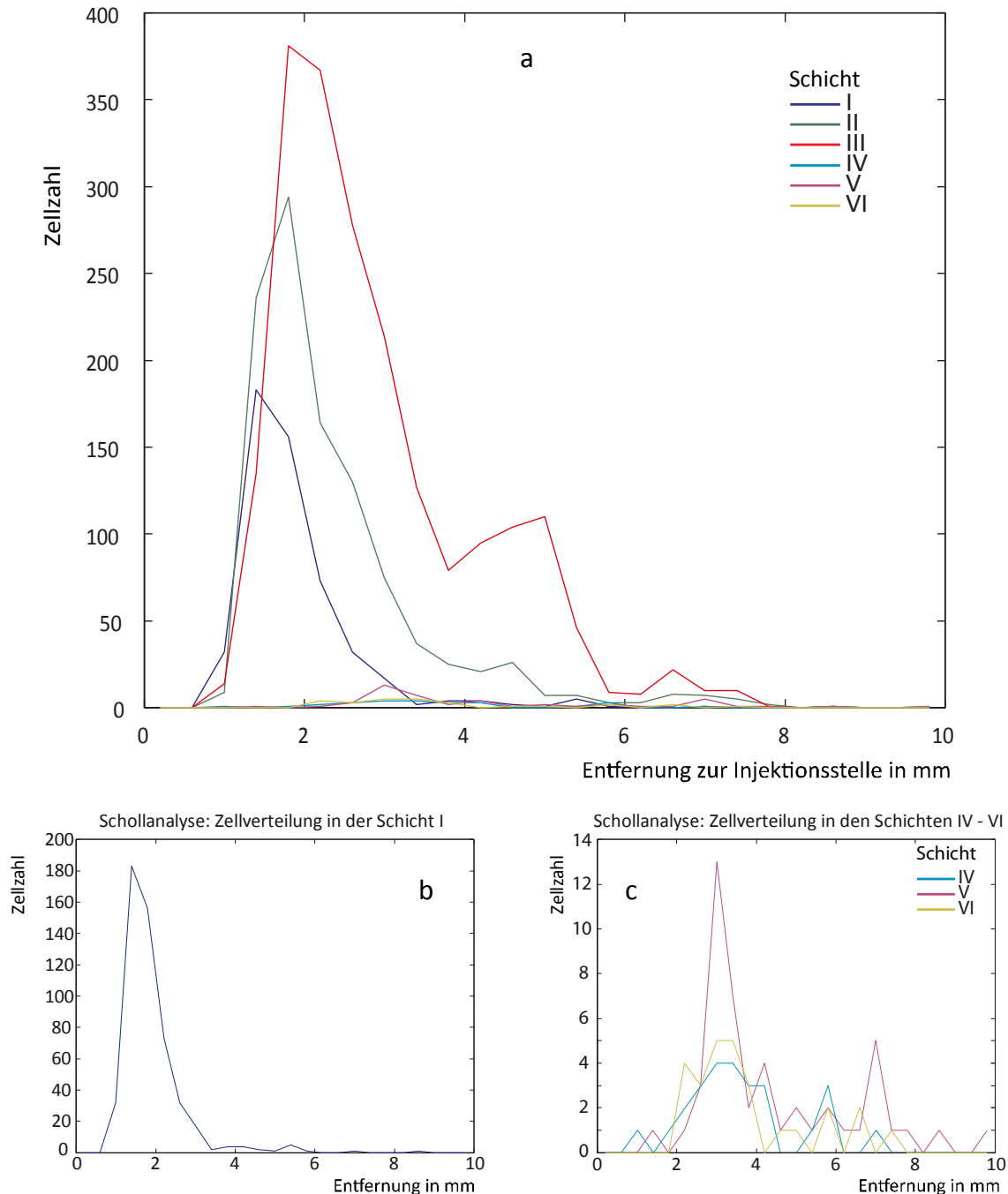


Abb. 41: Schollanalyse der Zellverteilung in den Kortexschichten

a) Die Analyse ist normiert auf die Zellgesamtzahl. Es ist deutlich, dass die Schichten II und III die meisten Zellen beherbergen. Schicht I stellt vor allem Zellen nahe der Injektionsstelle, s. b). Die Schichten IV bis VI stellen insgesamt wenig Zellen. Graphen der Schichten farbkodiert (s. Legende).

b) + c) Zur besseren Differenzierung der tieferen Schichten sind die Zellverteilungen in den Schichten I und IV bis VI gesondert dargestellt. Bei diesen ergänzenden Grafiken ist die unterschiedliche Skalierung der Ordinaten zu beachten. Die Schichten IV bis VI zeigen eine relative Zellhäufung im Abstand zur Injektionsstelle um die 3 und 6-7 mm.

Schaut man sich die Schichtverteilung der Zellen in einer solchen Shollanalyse an, so spiegelt sich darin das Bild der gesamten Zellverteilung wie oben beschrieben wider. Es zeigt sich, dass die drei Maxima-Bereiche der Zellhäufung im Wesentlichen von den Zellen der Schicht III getragen werden. In den anderen Schichten ist diese Dreigipfligkeit allenfalls angedeutet (Schicht II, evtl. V, s. Abb. 42b+c). Schicht I ist vor allem durch Zellen nahe der Injektionsstelle repräsentiert. Die Schichten IV und VI stellen insgesamt zu wenige Zellen, um eine Aussage formulieren zu können. Die differenzierende Frage nach der Zellverteilung innerhalb einer Schicht kann durch eine Shollanalyse, die auf die jeweilige Zellzahl der Schicht normiert ist, einer Antwort näher gebracht werden, weil sie schichtspezifische Besonderheiten offenbaren kann (s. Abb. 42).

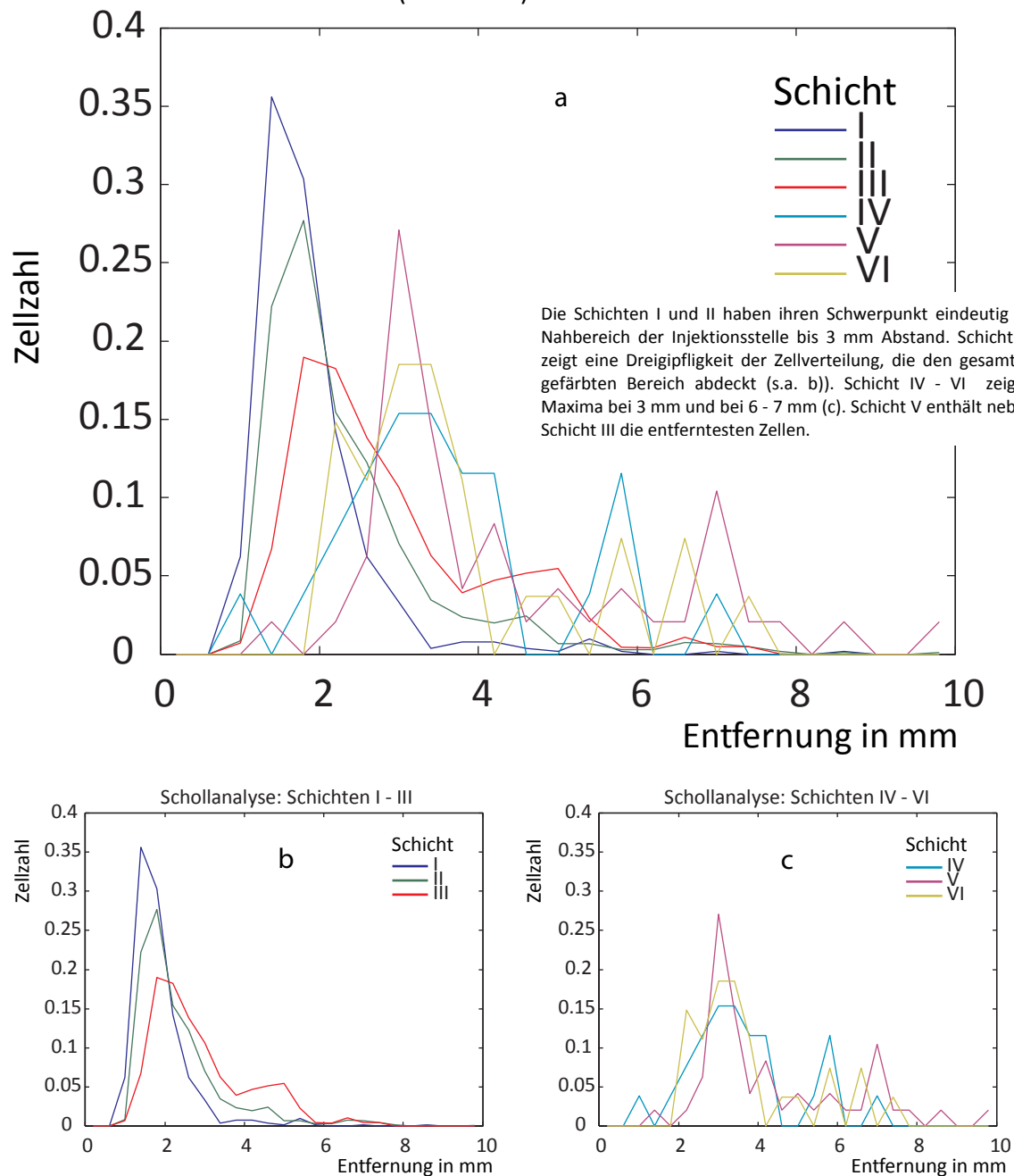


Abb. 42: Schollanalyse der Zellverteilung in den Kortexschichten normiert auf die Schichten
Die Gesamtdarstellung (a) wurde aufgetrennt in die Darstellung der äußeren Schichten I - III (b) und inneren Schichten IV - VI (c). Schollringbreite 400 μ m.

Die Schichten I und II haben ihren Schwerpunkt eindeutig im Nahbereich der Injektionsstelle bis 3 mm Abstand. Schicht III zeigt die schon erwähnte Dreiphasigkeit der Zellverteilung aufgrund der hohen Anzahl an Zellen insgesamt, die in dieser Schicht vorkommen, und ihre Zellen decken den gesamten gefärbten Bereich ab. Schicht V + VI zeigen Maxima bei 3-4 mm und bei 6 - 7 mm und enthalten neben Schicht III die entferntesten Zellen. Hier stellt sich die Frage, wie sich die Zellverteilung in Abhängigkeit von der Entfernung zwischen den Schichten verhält. Deshalb wurde die Tiefenverteilung der Zellen je Shollring dargestellt (s. Abb. 43).

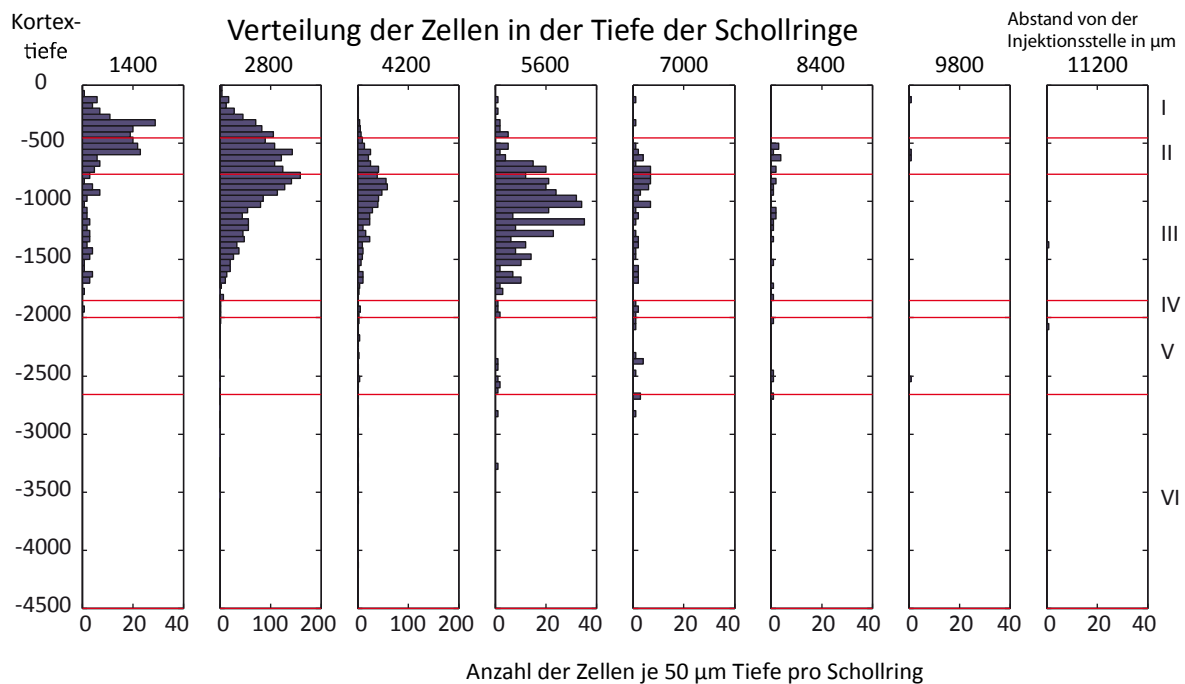


Abb. 43: Zellverteilung im Motorkortex in Abhängigkeit von Entfernung und Tiefe.

Bei einer Shollringbreite von 1400 µm zeigt die Grafik die Verteilung der Zellen in der Kortextiefe in Schritten von 50 µm. Die Ordinate gibt die Kortextiefe in µm an, die Skalen der Abszissen jeder Shollringsäule geben die Anzahl der Zellen je 50 µm Tiefe des Shollrings an (unterschiedliche Skalierung der 2. und 3. Säule beachten). Die römischen Zahlen rechts kennzeichnen die Kortexschichten von I bis VI, ihre Grenzen sind durch die roten Querstriche wiedergegeben. In dieser Grafik fällt besonders auf, dass die Zellen der Schichten IV, V und VI erst in einer Entfernung von 2mm von der Injektionsstelle zu registrieren sind und in einer Entfernung ab 6 mm von der Injektionsstelle ein relativ ausgewogenes Verhältnis der Zellverteilung zwischen den äußeren und inneren Schichten gegeben ist.

In dieser Grafik fällt besonders auf, dass die Zellen der Schichten IV, V und VI erst in einer Entfernung von 2mm von der Injektionsstelle zu registrieren sind und in einer Entfernung ab 6 mm von der Injektionsstelle ein relativ ausgewogenes Verhältnis der Zellverteilung zwischen den Schichten gegeben ist. Dies lässt sich an einer Shollanalyse normiert auf den Shollring deutlich ablesen (s. Abb. 44). Die Normierung der Zellverteilung auf den Shollring zeigt die Dominanz der Schichten II und III über den gesamten Bereich, im Nahbereich um die Injektionsstelle trifft dies auch auf Schicht I zu. Interessant sind die zwei Minima des relativen Zellanteils der Schicht III im Abstand von zwei Millimetern im Bereich von ca. 5,5 und 7 mm von der Injektionsstelle sowie einem Anstieg insbesondere der Schicht V (aber auch der unteren Schichten IV+VI). Der Bereich ist jeweils relativ schmal (400-600 µm), aber doch deutlich. Dieser Zusammenhang wird in der Auswahl der Schichten III und V (s. Abb. 44c) hervorgehoben.

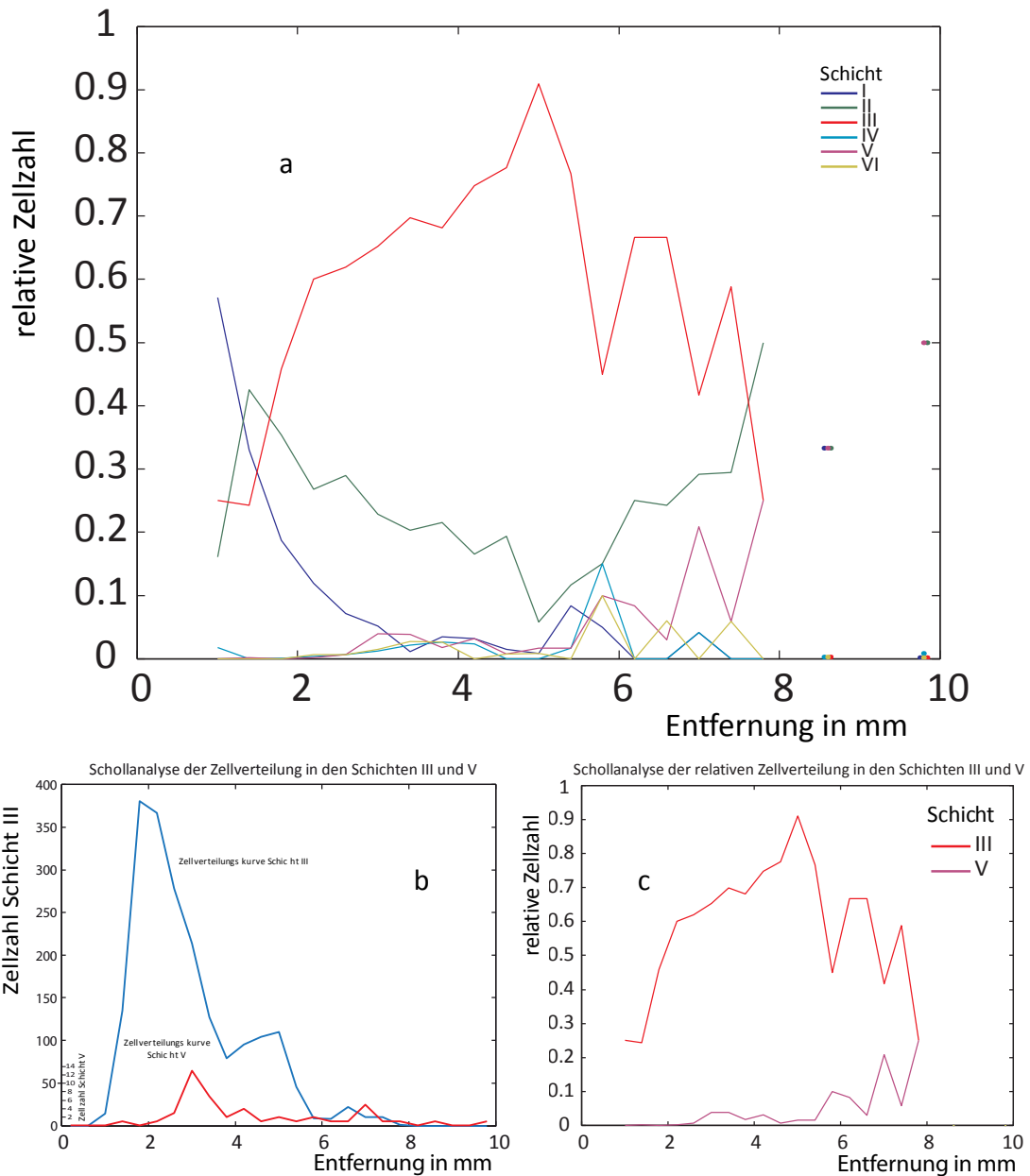


Abb. 44: Schollanalyse der Zellverteilung im Motorkortex normiert auf die Schollringe

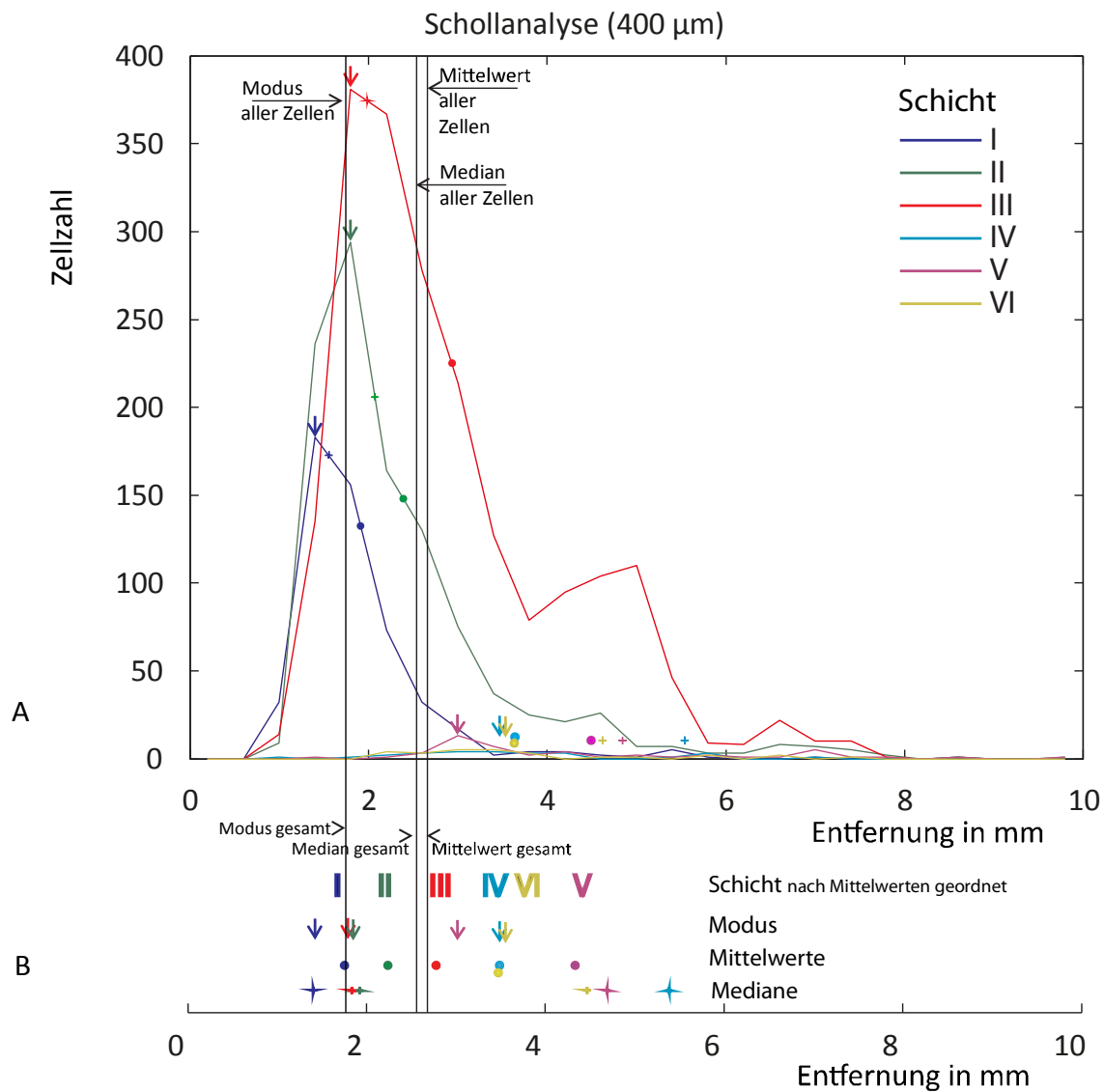
a) Die Gesamtübersicht zeigt den relativen Anteil der Zellen einer Schicht an der Gesamtzahl der Zellen in einem Schollring. Die Farbpunkte rechts in der Grafik repräsentieren Einzelwerte. Die Schichten III und V wurden in einem gesonderten Vergleich dargestellt (b+c). Schichten farbkodiert.

b) Zellverteilung der Schichten III und V normiert auf die Gesamtzellzahl. Unterschiedliche Ordinaten beachten. Der Verlauf beider Kurven zeigt andeutungsweise eine Ähnlichkeit, wobei die Kurve der Zellverteilung der Schicht V zur Peripherie hin verschoben ist.

c) Zellverteilung der Schichten III und V normiert auf den jeweiligen Schollring. Hier wird die Gegenläufigkeit in den Peripheriebereichen deutlich. Im Bereich bis 5 mm überwiegt die Zahl der Zellen in Schicht III so stark, dass eine Relation untereinander nicht ersichtlich ist.

Zur besseren Einschätzung wird die Grafik mit den absoluten Zahlen beider Schichten wiedergegeben (Abb. 44b), in der eine gewisse Ähnlichkeit im Verlauf der Kurven zu sehen ist, wobei die Kurve der Schicht V zur Peripherie hin verschoben ist.

Die Frage, ob sich diese Sachverhalte in Kenngrößen darstellen lassen, haben dazu geführt arithmetisches Mittel und Median der jeweiligen Schicht zu errechnen. Der Modus, als dritte Größe, lässt sich in diesem Fall als Maximalwert der Häufigkeitsverteilung definieren (s. Abb. 45).



C

		Entfernung zur Injektionsstelle in μm	
Schicht / Zellen		Mittelwert	Median
I	515	1883	1570
II	1065	2372	2085
III	2007	2926	2001
IV	26	3635	5533
V	49	4473	4832
VI	26	3619	4610
gesamt:	3688	2651	2540

Abb. 45: Modus, Mittelwert und Median der Zellverteilungen in den Schichten

A) In die Schollanalyse wurden die Kenngrößen Modus (senkrechter Pfeil), arithmetischer Mittelwert (Punkt) und Median (Kreuz) eingezeichnet und in einer Leiste unterhalb der Grafiken zum besseren Vergleich nebeneinander abgetragen. Die Schichten sind farbkodiert (s. Legende). Mit drei durchgehenden Linien wurde der Modus, Mittelwert und Median für alle Zellen eingezeichnet. Die Werte lassen sich ordnen, wobei die Schichten I – III näher zur Injektionsstelle, die der Schichten IV – VI peripherer liegen. (Nähere Erörterung s. Text)

C) Datentabelle. Sie gibt die Zellanzahl je Schicht an und ordnet ihnen die Mittelwerte und Mediane der Entfernung der Zellen zur Injektionsstelle zu. Die letzte Zeile gibt die Daten für das gesamte Gewebe wieder.

Das arithmetische Mittel lässt eine Aussage über die Größenordnung der Zellverteilung zu, ist gegenüber Extremwerten aber insofern anfällig, da diese die mehrheitlichen Werte dominieren können. Der Median zeigt an, über welchen Bereich die Zellen je zur Hälfte verteilt sind, weil er den mittleren Wert kennzeichnet. Der Modus, hier abgelesen an dem Maximum der Häufigkeit der Zellen in einem Shollring, zeigt einen Schwerpunkt der Zellverteilung an.

Hierbei zeigen sich folgende richtungsweisenden Ergebnisse:

- Die Kennzahlen der Schichten I – III liegen unterhalb des arithmetischen Mittels und Medians aller Zellen (Ausnahme arithmetisches Mittel Schicht III), die der unteren Schichten IV bis VI darüber.
- Für die Schichten I – III liegen Median und Modus eng beieinander und signalisieren den Schwerpunkt der Zellen in diesen Schichten in dem Bereich von ca. 1,5 mm für die Schicht I, für die Schichten II und III in knapp 2 mm Entfernung von der Injektionsstelle, denn die Häufigkeitskurven fallen zur Peripherie hin stark ab. Die arithmetischen Mittelwerte liegen von Schicht I nach Schicht III immer weiter von der Injektionsstelle entfernt und signalisieren, dass Schicht III die weiteste Ausbreitung zeigt, während Schicht I im Nahbereich seine Domäne hat.
- Schichten IV und VI zeigen nahe beieinander liegende arithmetische Mittelwerte und Modi, während die Mediane von der Injektionsstelle entfernter liegen. Es dürfte den geringen Zellzahlen geschuldet sein, dass die Stelle, an der sich einige Zellen häufen, zugleich arithmetisches Mittel und Modus bestimmt. Der von der Injektionsstelle weiter entfernt liegende Median gibt als mittlerer Wert an, dass einige Zellen vereinzelt, aber weiter verstreut im Gewebe vorkommen.
- Interessant ist Schicht V. Die Werte wandern von der Injektionsstelle immer weiter nach außen in der Reihenfolge von Modus, arithmetischem Mittel und Median. Es gibt eine deutliche Zellhäufung bei ca. 3 mm Entfernung von der Injektionsstelle (Modus) und eine weite Streuung der Zellen bis in periphere Bereiche (Median bei knapp 5 mm Entfernung), die sich in einem arithmetischen Mittel bei ca. 4,5 mm Entfernung niederschlägt. Aber auch hier sind die Zellzahlen relativ gering.

3.4.1. Die Neuronengruppen (Patches)

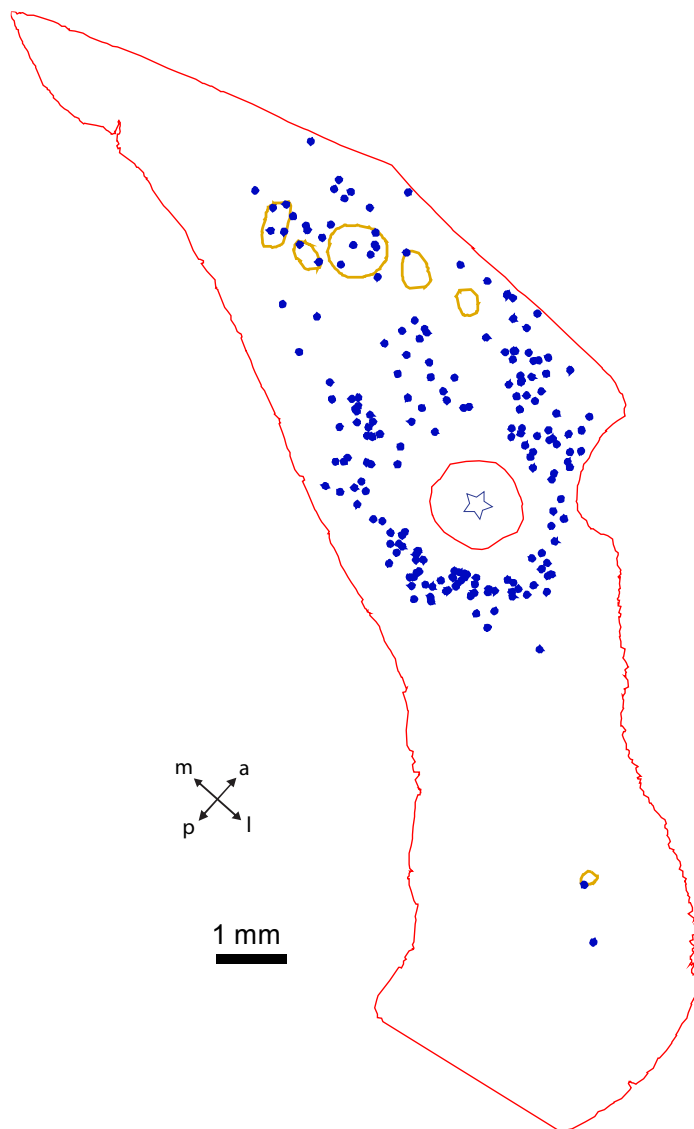


Abb. 46 Beispiel einer Schnittzeichnung mit Patches des Gewebes P4
Die Schnittkontur wird durch die rote Linie wiedergegeben, die Zellen sind durch blaue Punkte gekennzeichnet, die Patches als orangefarbene Linien. Der Stern markiert die Injektionsstelle.

Auffällig an dem Bild des intrinsischen Netzwerkes ist neben den zellulären gefärbten Strukturen (Zellen, Dendriten, Axone) die Erscheinung der Patches. Die Patches sind luminiscente Gewebereiche, ungleichmäßig geformt, eher ellipsoid als rund, von unterschiedlicher Größe (Abb. 46 und Abb. 92). Besonders in den Bereichen eng beieinanderliegender Patches ist die Abgrenzung nicht immer eindeutig.

Für die Festlegung eines Patches galten folgende Kriterien (s.o. Kap 2.3.3.):

Ein Patch ist gekennzeichnet durch die mehr oder minder deutliche Abgrenzung eines gefärbten Gewebegebietes, das sich gegenüber dem mehr oder minder nicht gefärbten Umfeld abhebt und mindestens ein Neuron enthalten sollte.

Die Grenzen eines Patches liegen dort, wo das leuchtende Neuropilgebiet endet.

Die Größe der Patches wurde durch den längsten und kürzesten

Durchmesser ermittelt. Im Durchschnitt ergaben sich folgende Patchdurchmesser⁴⁷:

Arithmetisches Mittel der längeren Durchmesser: $703 \pm 260 \mu\text{m}$,

arithmetisches Mittel der kürzeren Durchmesser : $528 \pm 187 \mu\text{m}$.

Das ergab eine durchschnittliche Fläche von:

Arithmetisches Mittel der Flächen: $305.879 \pm 204.094 \mu\text{m}^2$.

Die Patches hatten untereinander folgende Abstände zu den nächsten Nachbarn:

der durchschnittliche Abstand der Patches zum nächsten Patch betrug $1385 \pm 1530 \mu\text{m}$.

Die Patches hatten eine durchschnittliche Entfernung zur Injektionsstelle von $3388 \pm 1712 \mu\text{m}$, bei einer weitesten Entfernung von $7239 \mu\text{m}$ (s. Tab. 3).

⁴⁷ Die Wertetabelle für die Patch-Durchmesser und –Flächen befindet sich im Anhang A 47

Patch-Größen M1

	Durchschnitt	Standardabweichung	StAbw in %	Fallzahl
Entferng zur Injektionsstelle	3388	1712	51	N = 71
Interpatchdistanz (IPD)	1385	1530	110	N = 71
Fläche (μm^2)	305.879	204.094	67	N = 104
Durchmesser Maximum (μm)	703	260	37	N = 104
Durchmesser Minimum (μm)	528	187	35	N = 104
Umfang (μm)	1958	794	41	N = 71
Zellen je Patch des Schnittes	5	4,8	98	N = 71

Tab. 3: Kenngrößen der Patches im primären Motorkortex

Die hohen Standardabweichungen zeigen die große Variationsbreite der Patches an, sowohl untereinander als auch in Hinblick auf die Patchzeichnungen einer Zellsäule. Von dieser könnte man annehmen, dass sie eine funktionelle Gruppe bildet und räumlich relativ einheitlich ist. Anhand zweier benachbarter Patches⁴⁸ und einem Auswahlpatch (s. Abb. 48)⁴⁹ wurde diese Varianz dokumentiert (s. Abb. 47).

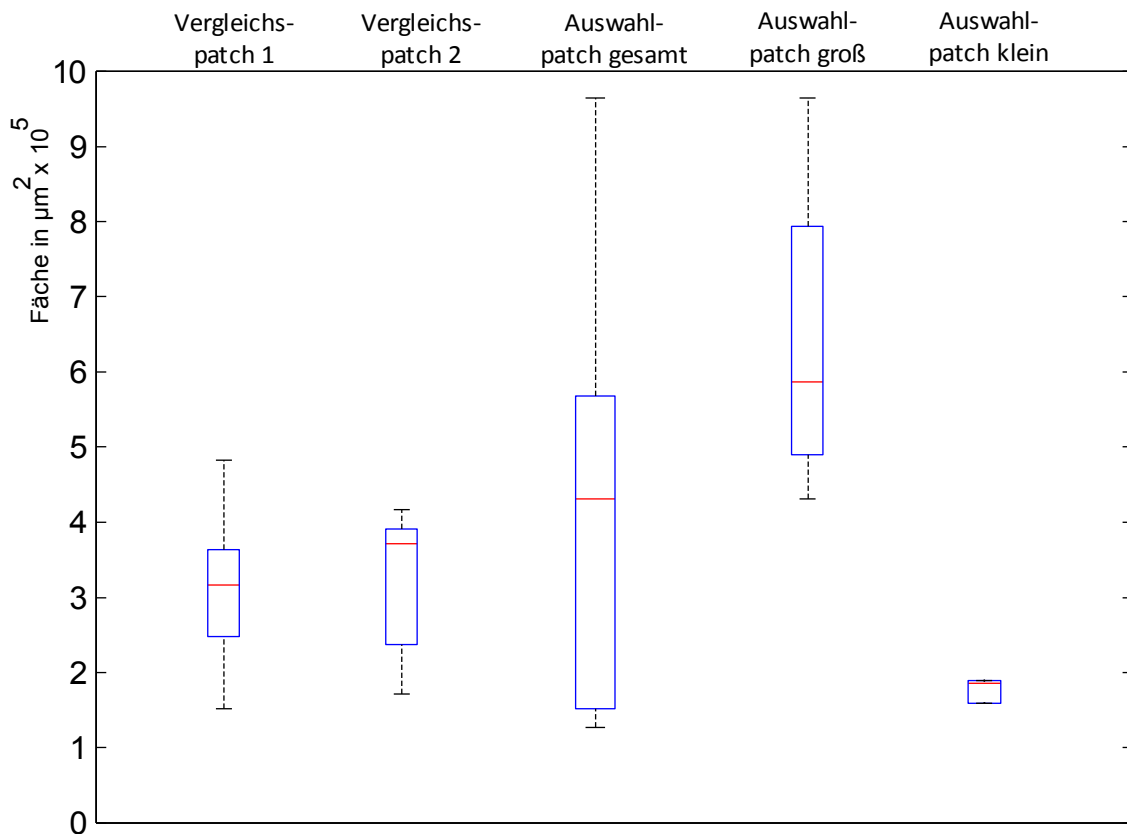


Abb. 47: Flächenvarianz der Patches innerhalb einer vertikalen Patchesäule im Vergleich

Dargestellt sind zwei Vergleichspatches und ein Auswahlpatch, dessen Eigenart darin besteht aus zwei Patches (Auswahlpatch groß und klein) zusammengesetzt zu sein. Die Flächenvarianz der Patches innerhalb einer Patchesäule ist in den Einzelpatches (1, 2, groß, klein) vergleichbar groß, während der zusammengesetzte Auswahlpatch eine Flächenvarianz zeigt, die in der Größenordnung der Interpatchvarianz liegt.

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linien), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen).

⁴⁸ Im Anhang 48 findet sich ein Bildauswahl der Vergleichs-Patches

⁴⁹ Im Anhang 49 befindet sich eine Zusammenstellung von weiteren Zeichnungen des Auswahlpatches

Die Varianz der Durchmesser zwischen den Patches von 35 % verringert sich deutlich auf die Hälfte (auf ca. 15 %) innerhalb einer Patchsäule, ist dennoch relativ hoch (s. Tab. 50)⁵⁰.

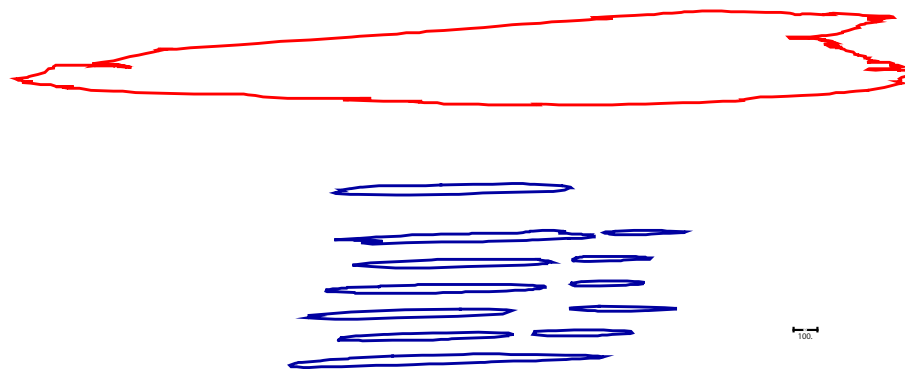


Abb. 48: Bild des Auswahlpatches (P4)

Dargestellt ist die seitliche Sicht auf die Patchsäulen, die an dieser Stelle die beiden Patchsäulen und die diese überlappenden Patchzeichnungen zeigen. Rote Linie = Gewebeschnitt oberhalb des Patches. Blaue Linien = Patches. Messbalken 100 μm .

Dieser Sachverhalt kann auch an dem Auswahlpatch verdeutlicht werden. Er wurde gewählt, weil sich an ihm die Problematik der Abgrenzung veranschaulichen lässt. Die Patchgrenzen in den übereinanderliegenden

Schnitten überlappen sich, so dass man daraus einen oder zwei Patches konstruieren kann. In manchen Schnitten wurde ein Patch eingezeichnet, der im Schnitt darüber als zwei Patches auftritt. Trennt man den größeren und kleineren Patch voneinander, ergeben sich Standardabweichungen in der Größenordnung der Varianz innerhalb eines Patches (Tab. 4, Spalten 1 – 4, Vergleichspatches). Geht man von der Vermutung aus, dass die Patches in den Schnitten „Scheiben“ einer Zellsäule sind, so liegt es nahe, den Auswahlpatch in zwei Säulen aufzuteilen. Die Alternative ist das Bild eines Patches, der sich nach unten in zwei Säulen aufspaltet und in der Tiefe wieder vereint. Für den vereinigten Patch liegt die Varianz im Interpatchbereich.

P2: Patch- durchmesser in μm	1 Vergleichspatches 2				P4 Auswahlpatch		Auswahlp. groß		Auswahlp. klein	
	Durchmesser		Durchmesser		Durchmesser		Durchmesser		Durchmesser	
	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min
Durchschnitt	610	675	640	678	877	613	1130	803	522	347
Standardabw	92	92	94	98	341	239	208	100	60	42
in %	15	14	15	14	39	39	18	12	11	12

Tab. 4: Patchdurchmesser Übersicht

Diese Betrachtung spricht für die von uns gewählte enge Definition der Patches unter der Voraussetzung, dass die anatomische Struktur mit geringerer Varianz eher einer Funktionseinheit entspricht als eine mit größerer Varianz (s.a. Kap. 4.7.).

⁵⁰ Im Anhang findet sich die Tabelle 50 zur Varianz der Durchmesser

Das Volumen eines Patches und die darin enthaltenen Zellen werden am Beispiel der ausgewählten Patches vorgestellt (Verfahren s. Kapitel 2.3.4.).

Volumina von Patches

	in μm^3	in mm^3
Volumen linker Patch	299.280.915	0,30
Volumen rechter Patch	315.874.559	0,32
Volumen Auswahlpatch gesamt	803.568.513	0,80
Volumen Auswahlpatch groß	531.791.086	0,53
Volumen Auswahlpatch klein	70.395.120	0,07

Tab. 6: Datentabelle der Volumenberechnungen von Patches
Drei ausgewählte Patches aus zwei Geweben wurden beispielhaft hinsichtlich ihres Volumens rekonstruiert.

Die Tiefenausdehnung der Patches liegt zwischen 500 und 1500 μm .

In dem Auswahlpatch ergaben sich folgende Daten in Hinblick auf die in einem Patch befindlichen Zellen:

In dem Patch sind insgesamt 230 Zellen enthalten,

149 ist die maximale Zahl von Zellen innerhalb einer Säule senkrecht zu einem einzelnen eingezeichneten Patch,

91 ist die Gesamtzellzahl unter der Annahme des Vorkommens der Durchschnitts-patchzellzahl je Schnitt von 7,6.

Die Abstände der Zellen in den ausgewählten Patches betrugen im Durchschnitt 142 μm , zur jeweils nächsten Zelle 16 μm und zur entferntesten nächsten Zelle 947 μm ⁵¹.

⁵¹ Datentabellen 27 und 28 im Anhang 51

3.4.2. Die Dendritenfelder

Es erscheint interessant, die Patchflächen mit den Dendritenfeldern der Pyramidenzellen zu vergleichen. Das hat seinen Grund in einer festgestellten Korrelation in den räumlichen Dimensionen von Dendritenbäumen und Patches ((Lund, Yoshioka et al. 1993) vgl. Kap. 4.2.2). Für einen solchen Vergleich wurden Daten erhoben. Es gibt aber auch Belege für eine Korrelation von Dendritenbaum und Axonmächtigkeit (Lund, Yoshioka et al. 1993, Hof, Nimchinsky et al. 1995). Zudem beeinflussen die morphologischen Eigenschaften der Dendriten sowie des gesamten Dendritenbaumes die physiologischen Funktionen (Spikingmuster) der Zelle sowie deren Funktion innerhalb des Areals und werden mit Lernen und Gedächtnisbildung in Verbindung gebracht (Poirazi and Mel 2001). So konnten etwa die Unterschiede in der Länge und dem Verzweigungsmuster der Neurone im Wernicke- und Brocazentrum der linken Hemisphäre mit der Sprachentwicklung beim Menschen in Verbindung gebracht werden (Zschau 2012). Für die untersuchten Dendritenfelder wurden deshalb auch die Verzweigungen registriert.

Die Verteilung der Dendritenfelddurchmesser (s. Abb. 49) zeigt einen Schwerpunkt um 400 μm Durchmesser und einer Spannweite von 250 bis 800 μm .

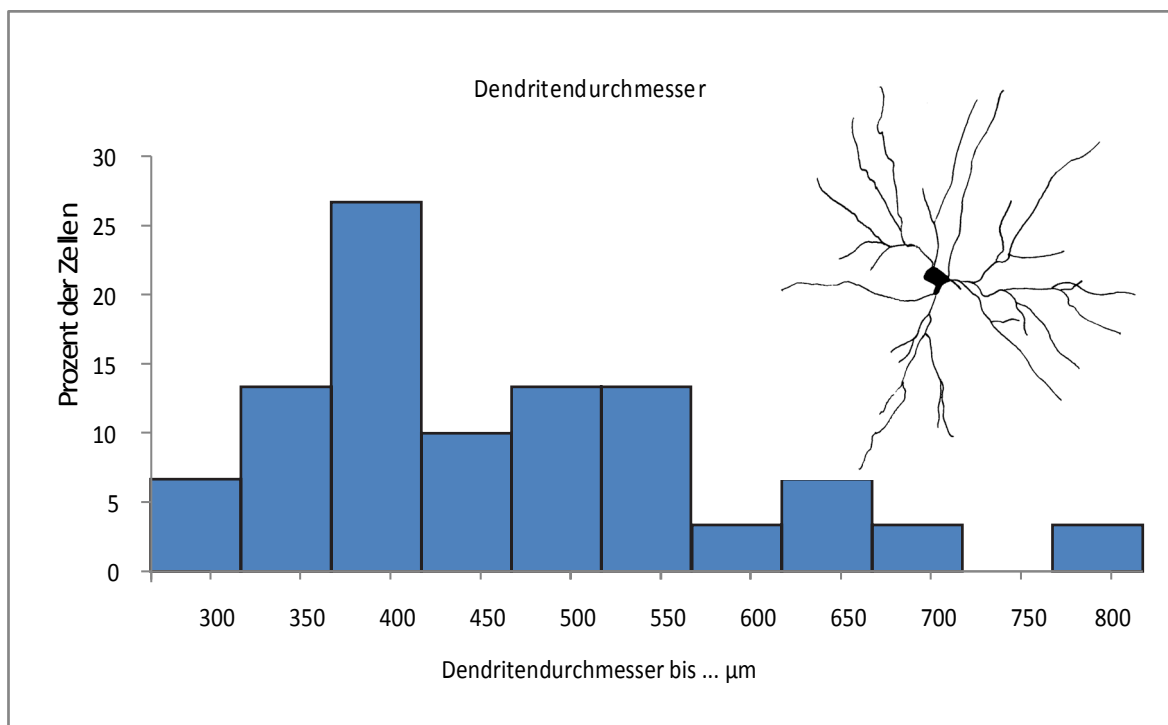


Abb. 49: Dendritenfelddurchmesser im primären Motorkortex

Die Dendritenfelder haben eine Spannweite von 250 – 800 μm mit einem deutlichen Schwerpunkt um 400 μm Durchmesser. N = 30

Rechts oben die Camera-lucida-Zeichnung eines Dendritenfeldes.

Der Vergleich der Patchflächen mit den Dendritenfeldern der Pyramidenzellen ergab folgendes Bild⁵² (s. Abb. 50):

⁵² Datentabelle im Anhang 52, Durchmesser und Flächen von Patches und Dendritenfeldern

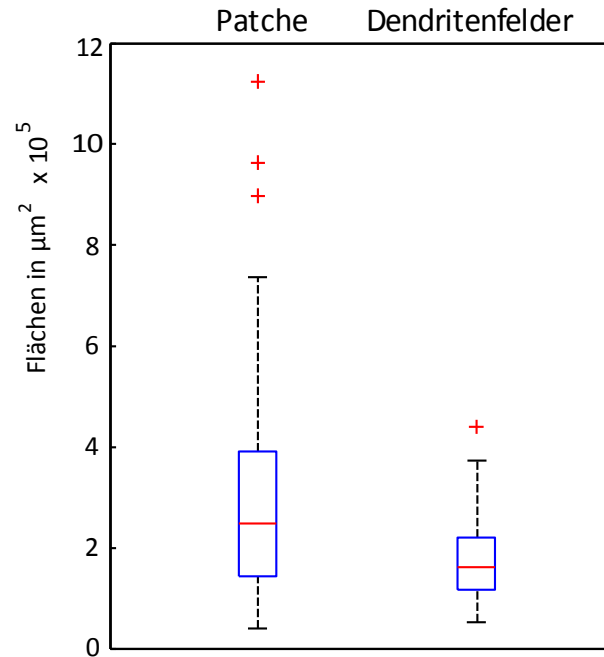


Abb. 50: Vergleich der Flächen von Patches und Dendritenfeldern

Dargestellt sind die Kastendiagramme der Patch- und Dendritenflächen. Die Dendritenflächen liegen im Varianzbereich der Patches. Die Dendritenflächen sind durchschnittlich kleiner und zeigen eine geringere Varianz als die Patchflächen, deren Varianzbereich zwei- bis dreimal so groß ist. Dementsprechend ist der Unterschied der Mediane signifikant ($p = 1.9204 \text{ e-}013$).

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linie), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

Länge, Anzahl und Verzweigungsstruktur der Dendriten sind ein Maß für die Konnektivität des Bereiches der Dendritenaufspannung (s.Tab. 7)⁵³.

N = 30 (N = 21 mCr N = 9 mCl)	längster Dendrit in μm	Durch- Messer in μm	zweit- längster Dendrit in μm	Fläche ca. in μm^2	Anzahl der Dendritenabzweigungen je Zelle				
					1. Abzweig	2. Abzw	3. Abzw	4. Abzw	5. Abzw
Durchschnitt	259	464	205	175.369	4,5	3,8	1,9	0,6	0,03
Standardabweichg.	68	118	60	92.268					

Tab. 7: Datentabelle zu den Dendritenverzweigungen

⁵³ Datentabelle 30 im Anhang 52, Verzweigungen der Dendritenbäume

3.4.3. Die Asymmetrie des Netzwerkes

Um das Netzwerk zu charakterisieren, wurde die ungleichmäßige Zellverteilung um die Injektionsstelle und deren patchiges Aussehen als Maß für die asymmetrische Verteilung herangezogen. Die ungleichmäßige Verteilung der Zellen in verschiedenen Richtungen um die Injektionsstelle wurde durch eine zirkuläre bzw. polare Statistik erfasst.

Die patchige Struktur wurde durch Rasterung der Neuronenverteilung veranschaulicht. Die gewählte Kantenlänge der Raster ist mit 250 μm etwas geringer als der Durchschnittswert der Patch-Radien von 307 μm (s.o. Tab. 3) und kann damit die Gruppierung gut erfassen, auch wenn das Raster die Patches nicht mittig erfasst (s. Abb. 51).

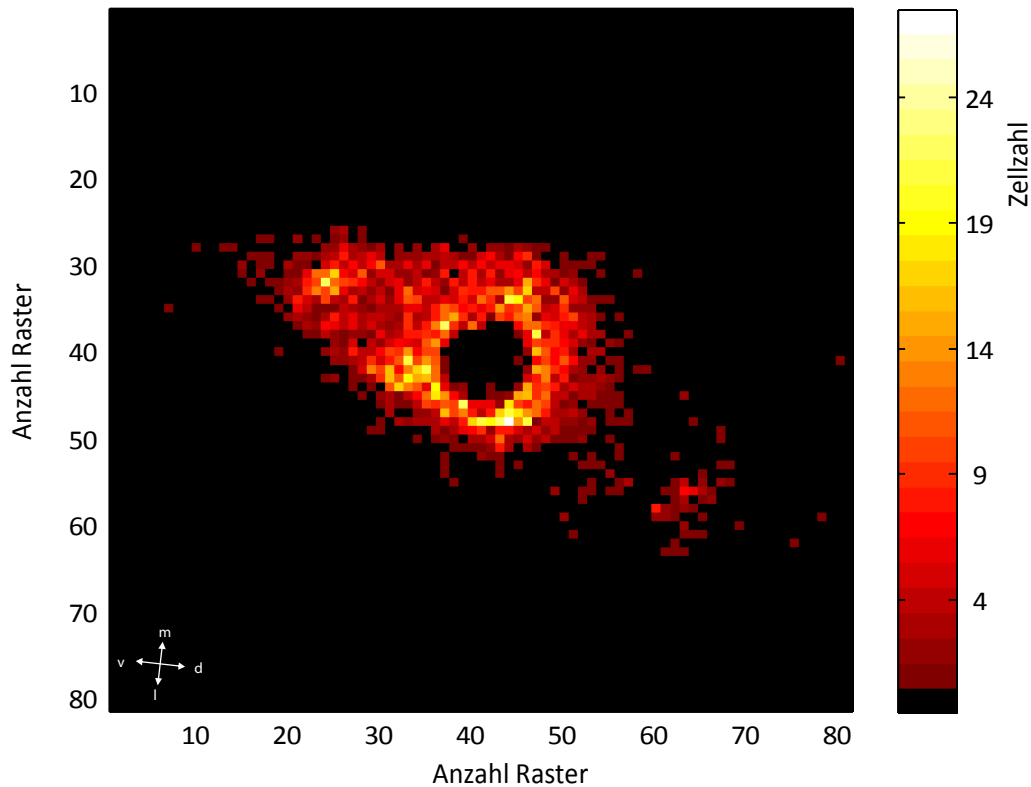


Abb. 51: Rasterung der Zellverteilung

Die patchige Struktur der Neuronenverteilung tritt durch Rasterung hervor. Die dunkle Mitte ist die Injektionsstelle. Farbgebung der Rasterfelder s. Legende rechts. Lagekreuz: m = medial, l = lateral, v = ventral, d = dorsal.

Die Neuronen sind deutlich gruppiert und verteilen sich asymmetrisch um den Bezugspunkt (Injektionsstelle) herum. Diesen Sachverhalt spiegelt das polare Histogramm der Richtungsverteilung der Zellen wider (s. Abb. 52).

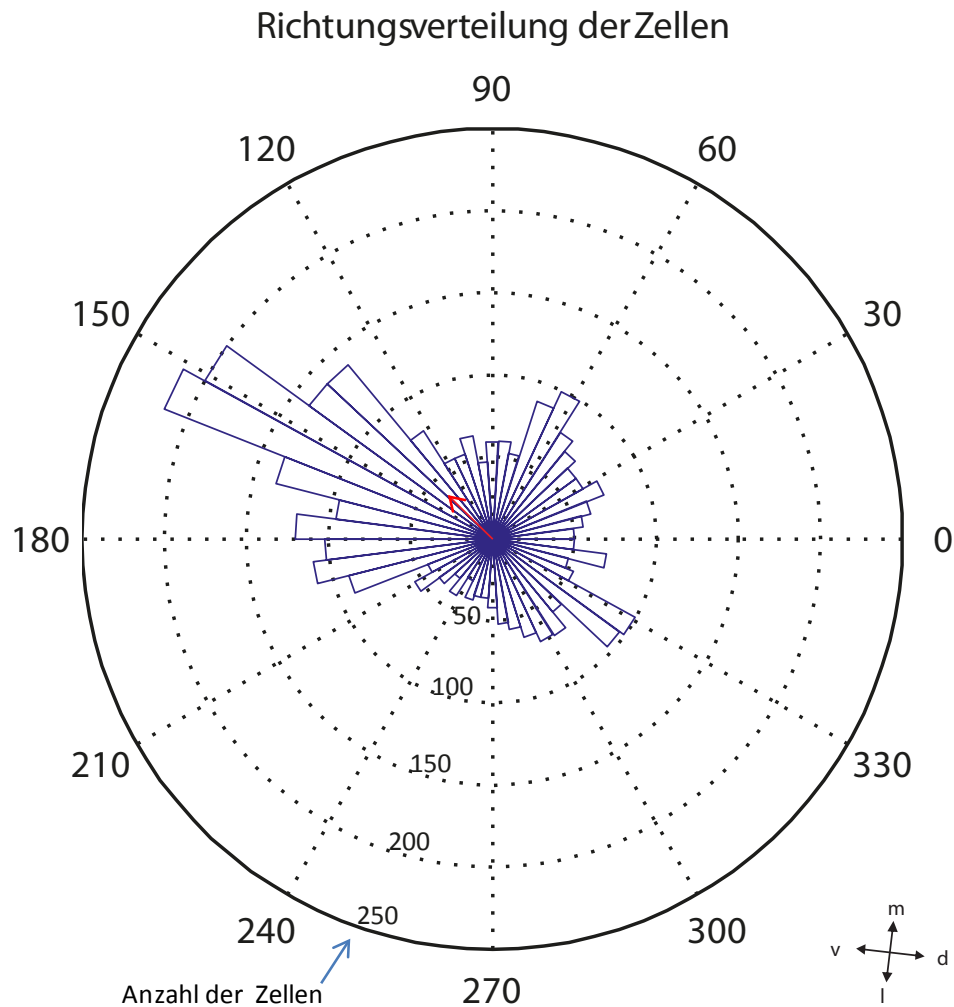


Abb. 52: Polarstatistik aller Zellen

Polares Histogramm der Zellverteilung um die Injektionsstelle. Die Grafik gibt an, wie viele Zellen in einem Sektor von 7,2 Grad und damit in einer bestimmten Richtung liegen. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an, seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung (normiert auf die maximale Zellzahl der Grafik).
Lagekreuz: m = medial, l = lateral, v = ventral, d = dorsal.

Die mit einem Rayleightest (s. Kap. 2.3.8) geprüfte zufällige Verteilung der Zellen wurde zurückgewiesen ($p\text{-Wert} = 4.7572 \cdot 10^{-51}$). Die Verteilung ist bimodal, evtl. trimodal. Die Signifikanz wird in dem roten Richtungspfeil wiedergegeben (Richtungsmittelwert aller Zellen). Seine Länge gibt das Ausmaß der Richtungsbevorzugung an (normiert auf die maximale Zellzahl der Grafik).

Die Verteilung in den Schichten II + III spiegelt die bimodale, dorso-ventral (anterior-posterior) gerichtete Gesamtorientierungsverteilung wider, wenn auch mit schichtenspezifischen Akzenten. Schicht I zeigt eine davon abweichende medial-laterale Orientierung, die sich auch in Schicht IV findet (geringe Zellzahl beachten). Die Zellverteilungen der Schichten II und V sowie III und VI zeigen eine Entsprechung in der Orientierungsbevorzugung, wobei die Schichten II und V bei insgesamt recht gleichmäßiger Verteilung die entgegengesetzten Richtungen akzentuieren und die bimodale Verteilung stützen.

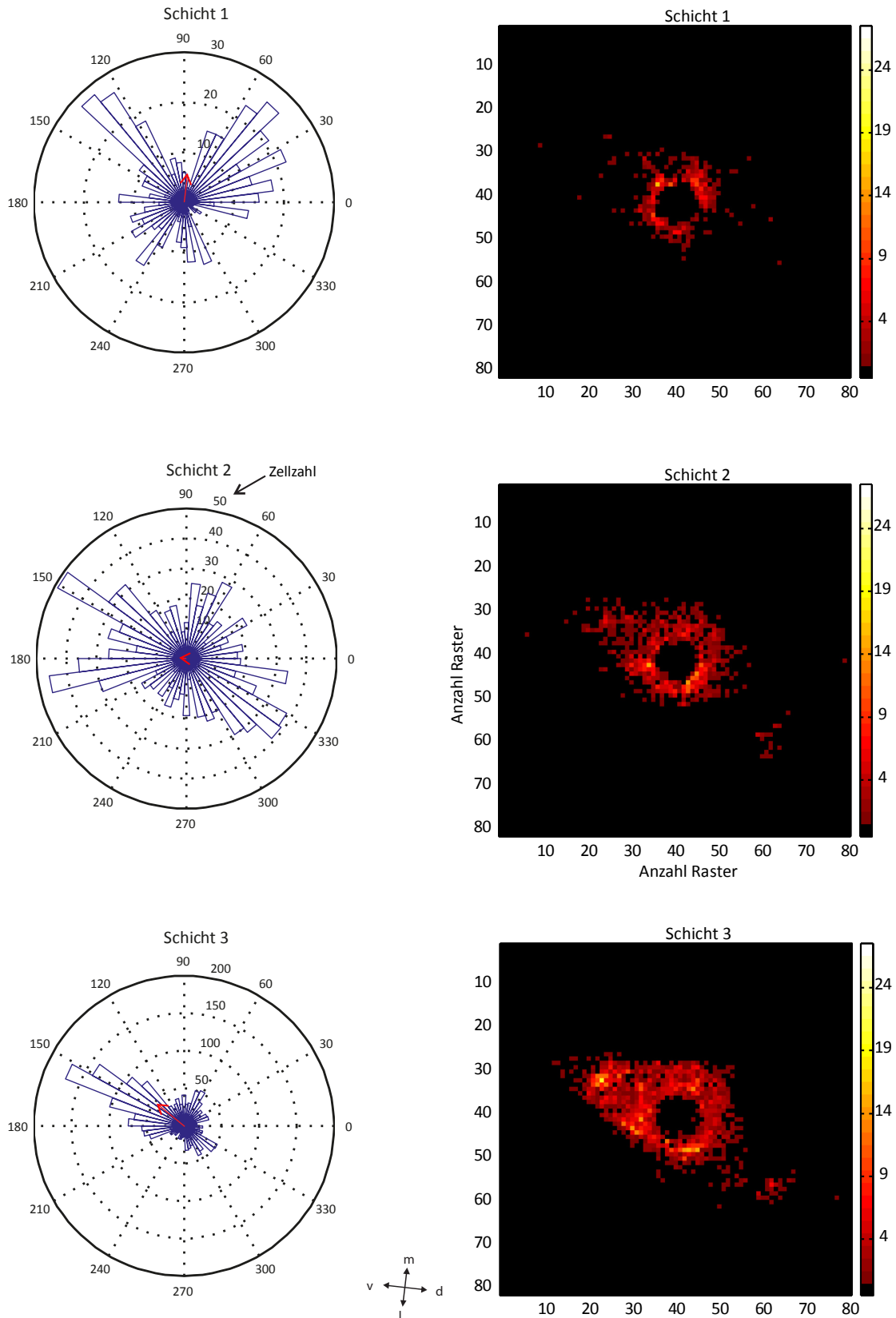


Abb. 53: : Gruppierung und Richtungsorientierung der Zellverteilung in Schichten I - III

Die Zusammenstellung präsentiert auf der rechten Seite die gerasterte Zellverteilung in den Schichten I - III des primären Motorkortex (Rasterkantenlänge 250 μm , Farbgebung der Zellzahlen s. Legende). Auf der linken Seite wird die Summierung der Zellen in Segmenten von 7,2 Grad und damit eine Richtungsabhängigkeit der Häufigkeit dargestellt. Unterschiedliche Zellzahlskalierungen der polaren Schichtstatistiken beachten. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an (Richtungsmittelwert aller Zellen), seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung. Das Lagekreuz ist für alle Grafiken gültig.

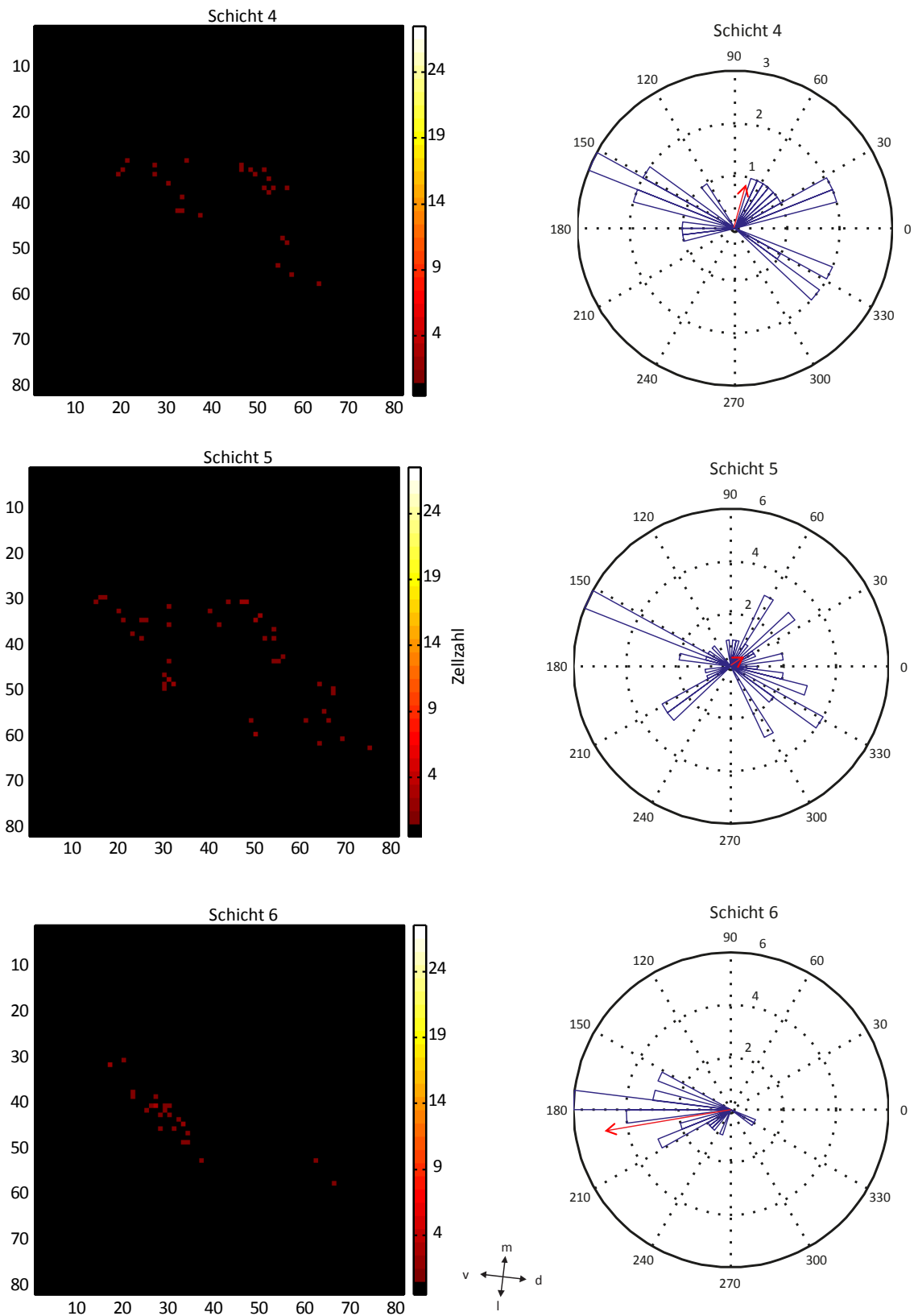


Abb. 54: Gruppierung und Richtungsorientierung der Zellverteilung in Schichten IV – VI

Die Zusammenstellung präsentiert auf der linken Seite die gerasterte Zellverteilung in den Schichten IV – VI des primären Motorkortex (Rasterkantenlänge 250 μm , Farbgebung s. Legende). Auf der rechten Seite wird die Summierung der Zellen in Segmenten von 7,2 Grad und damit eine Richtungsabhängigkeit der Häufigkeit dargestellt. Unterschiedliche Zellzahlskalierungen der polaren Schichtstatistiken beachten. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an, seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung. Das Lagekreuz ist für alle Grafiken gültig.

3.4.4. Die Konnektivität im Netzwerk

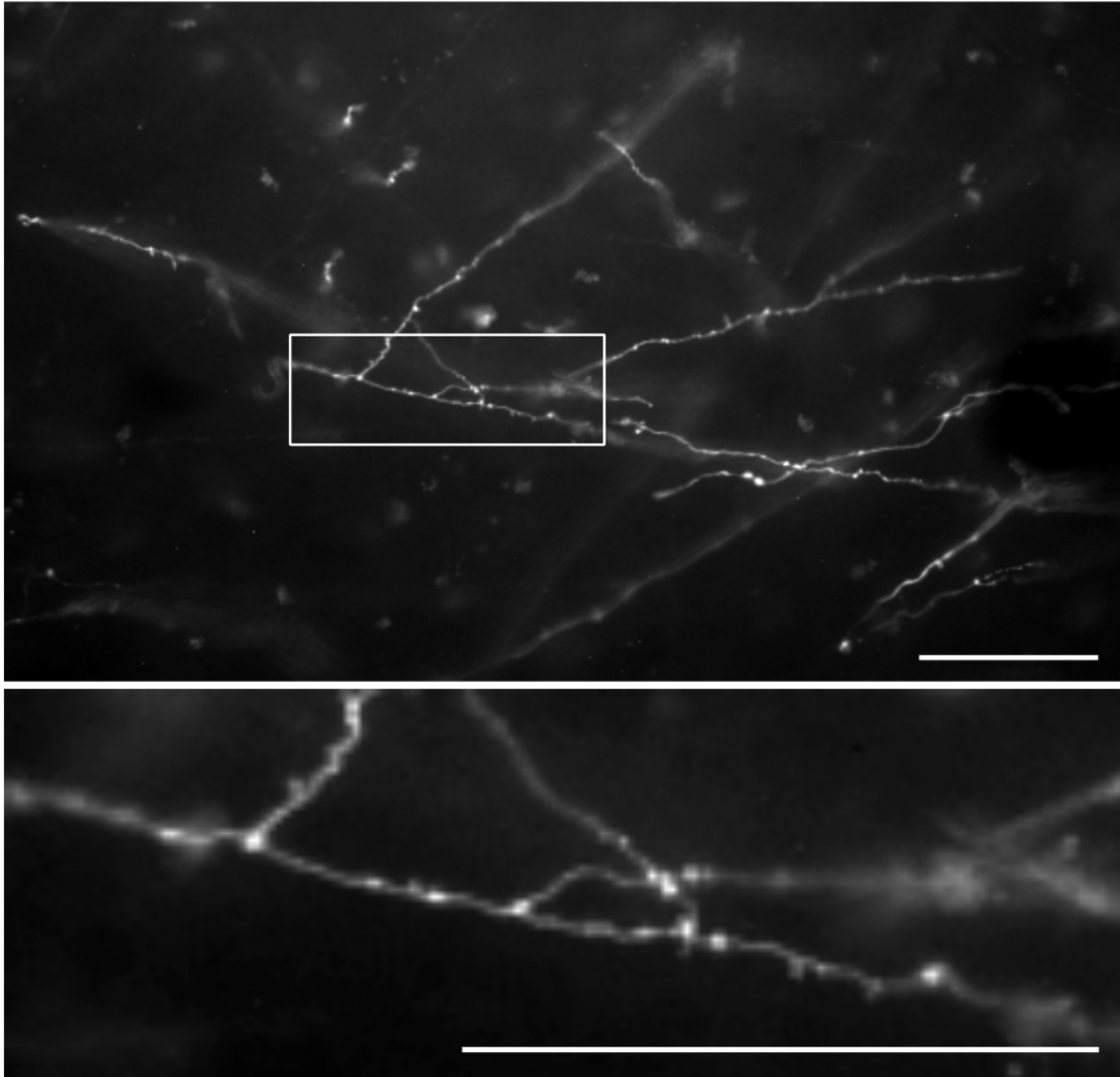


Abb. 55: Boutonbilder

Bild boutontragender Axone mit einer Vergrößerung im Ausschnitt darunter. Im Bild sind die heller leuchtenden Boutons der Axone zu sehen. Messbalken 100 μm .

Die Konnektivität im Netzwerk wird durch die retrograd gefärbten Zellen und die antero-grad gefärbten Axonterminalien, die sich besonders deutlich in den Patches zeigen, dokumentiert.

Bei genauerer Betrachtung der Axone zeigt sich, dass sie in ihrem gesamten Verlauf mit Boutons besetzt sind, die in der Regel als „Boutons en passant“ identifiziert werden konnten (s. Abb. 55 und 56). Daneben gab es vereinzelte gestielte Boutons, die eher für die Terminationsgebiete typisch sind.

Für den primären motorischen Kortex wurde ein arithmetisches Mittel von 7,2 Boutons en passant je 100 μm Axon ermittelt (Standardabweichung 2,9). Capaday (2004) erwähnt eine Abnahme der Boutondichte mit zunehmender Entfernung. Eine entsprechende Zuordnung gibt die Abb. 57 wieder⁵⁴.

⁵⁴ Datentabelle im Anhang 54, Boutondichte, Entfernung und Kortextiefe

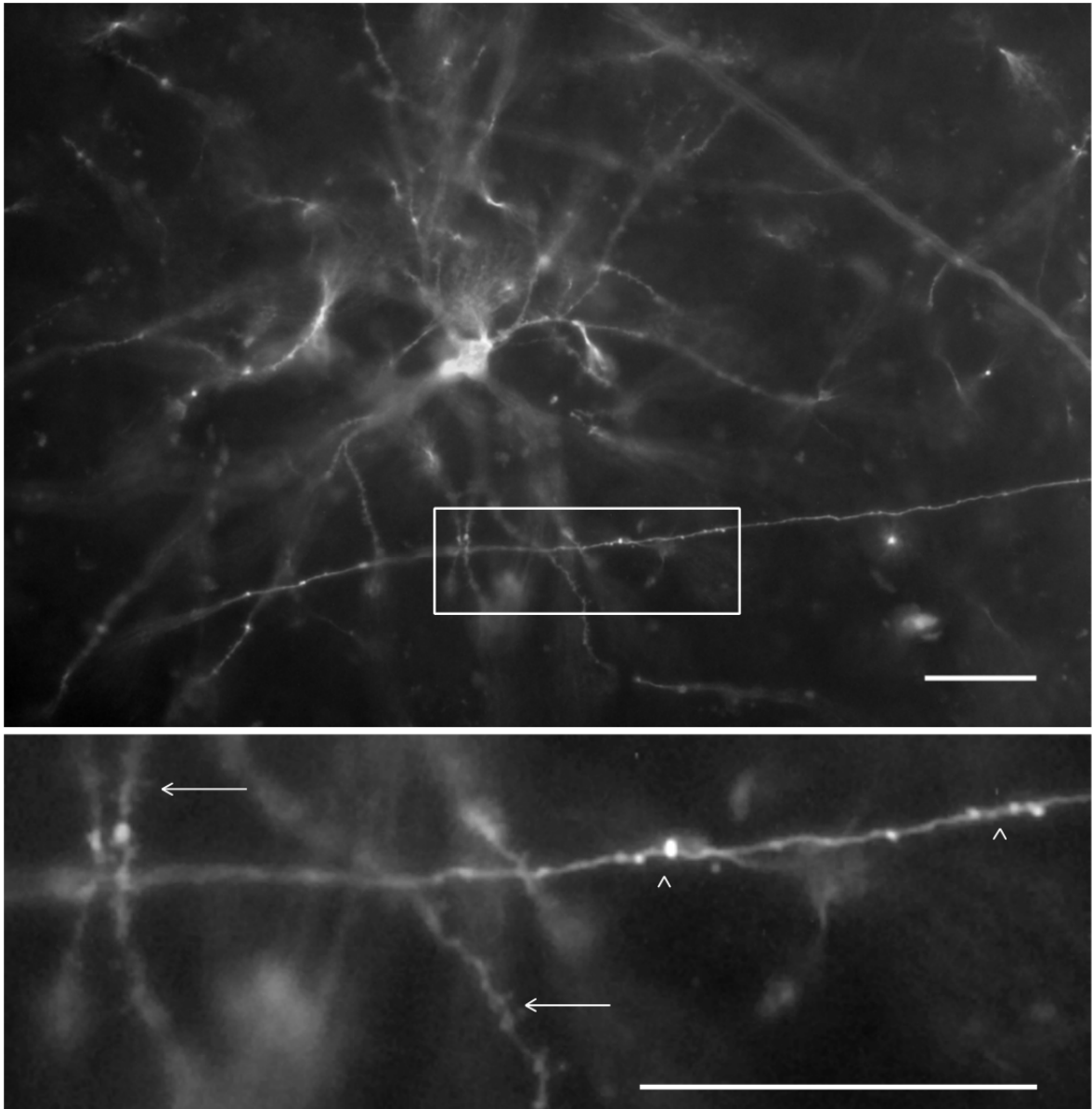


Abb. 56: Boutonbilder

Bild eines boutontragenden Axons mit einer Vergrößerung im Ausschnitt darunter. Im Bild kreuzen sich Dendriten und Axone. In der Vergrößerung sind deutlich die dornenbesetzten Dendriten (senkrecht bzw. schräg verlaufende Strukturen, Pfeile) und das waagrecht vorbeiziehende boutonbesetzte Axon (Pfeilköpfe) zu erkennen. Messbalken 100µm

In die Daten wurde ein Trend eingefügt, der nicht darauf schließen lässt, dass die Boutondichte in Abhängigkeit von der Entfernung zur Injektionsstelle sinkt. In der Literatur wird für einzelne Zellen eine abnehmende Verbindungsdichte in den Peripheriebereichen berichtet (Capaday, Ethier et al. 2009). Diese konnte hier nicht nachgewiesen werden, da eine Zuordnung der Boutondichte eines Axonabschnittes zur Entfernung vom zugehörigen Zellsoma nicht möglich war. Die Grafik gibt eine geringe Tendenz wieder, dass in einem intrinsischen Netzwerk statistisch gesehen die Peripherie über eine abnehmende Konnektivität verfügen könnte, die mit den bisherigen Befunden in Übereinstimmung stehen würde. Eine Signifikanzprüfung mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test der nahen gegenüber den fernen Bereichen ergab keinen signifikanten Unterschied der Boutondichten-Mediane (s. Abb. 58).

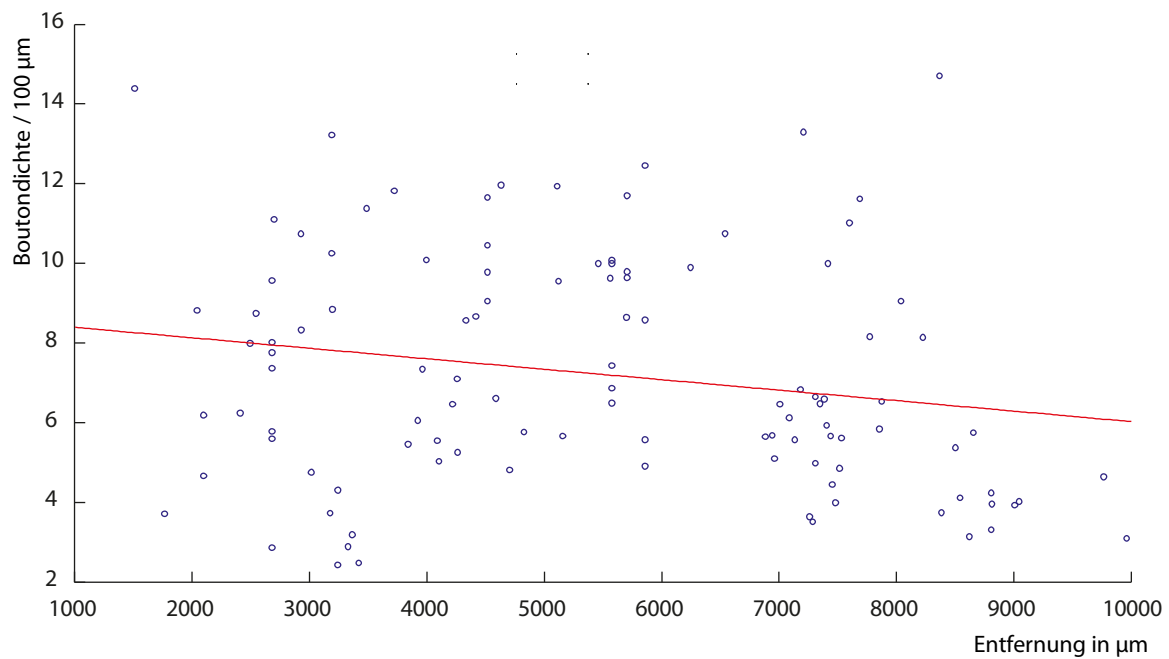


Abb. 57: Boutondichte bezogen auf die Entfernung von der Injektionsstelle
Die Punkte geben die Boutondichte (je 100 µm) in Abhängigkeit von der Entfernung zur Injektionsstelle wieder. Die rote Linie gibt den linearen Trend an. Dieser signalisiert eine nicht signifikante Beziehung. Test s. Abb. 58

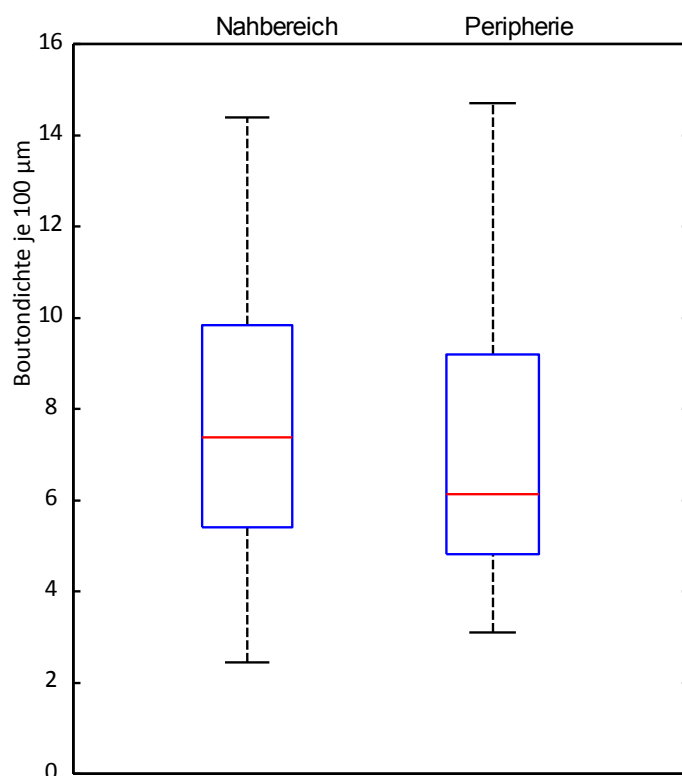


Abb. 58: Boutondichten in nahen und fernen Bereichen um die Injektionsstelle, Signifikanzprüfung

Die Signifikanzprüfung (Wilcoxon-Test) der zur Injektionsstelle nahen Bereiche (1000 – 5500 µm) gegenüber den fernen Bereichen (5500 – 10000 µm) ergab keinen Unterschied der Mediane. Die Nullhypothese, dass die Mediane gleich sind, konnte nicht zurückgewiesen werden ($h=0$).

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linien), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen).

Um eine solche Tendenz ggf. an einzelnen Axonen aufzeigen zu können, die in einem Schnitt ausgezählt werden konnten, wurden einige längere Axonverläufe in mehrere Abschnitte unterteilt und die Boutons ausgezählt. Es ergaben sich diskontinuierliche Boutondichten in den Axonverläufen, die auf lokale Verknüpfungsverdichtungen oder –ausdünnungen hinweisen (s. Abb. 59)⁵⁵.

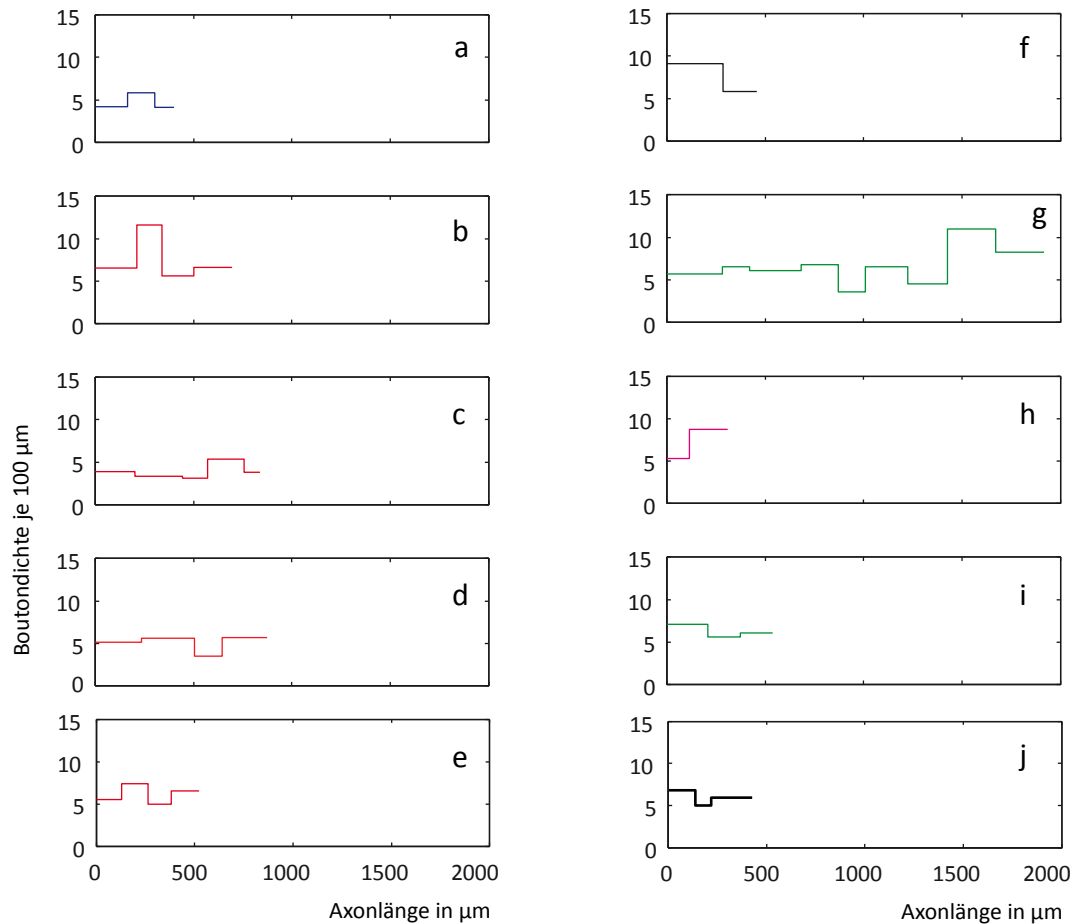


Abb. 59: Vergleich der Boutondichten im Verlauf verschiedener Axone

Die Ordinaten der einzelnen Grafiken geben die Boutondichte je 100 µm an. Die Abszissen geben die Längen der Axone in µm an. Die Graphen geben im waagerechten Verlauf die tatsächlichen Axonstrecken an, auf denen die Boutons gezählt wurden. Zu sehen ist, dass die Boutondichte lokal oft zwischen 50 und 100% schwankt, z.B. g) um das Doppelte, b) + e) um 50%.

Wenn auch die Anzahl der Daten statistisch für eine Signifikanzprüfung nicht ausreicht, deutet der Dichteverlauf auf eine ortsspezifische Verknüpfungsdichte und nicht auf eine Abnahme zur Peripherie hin.

⁵⁵ Datentabelle im Anhang 55, Boutondichte entlang einzelner Axone

Interessant sind noch die Verknüpfungsdichten in den Schichten.

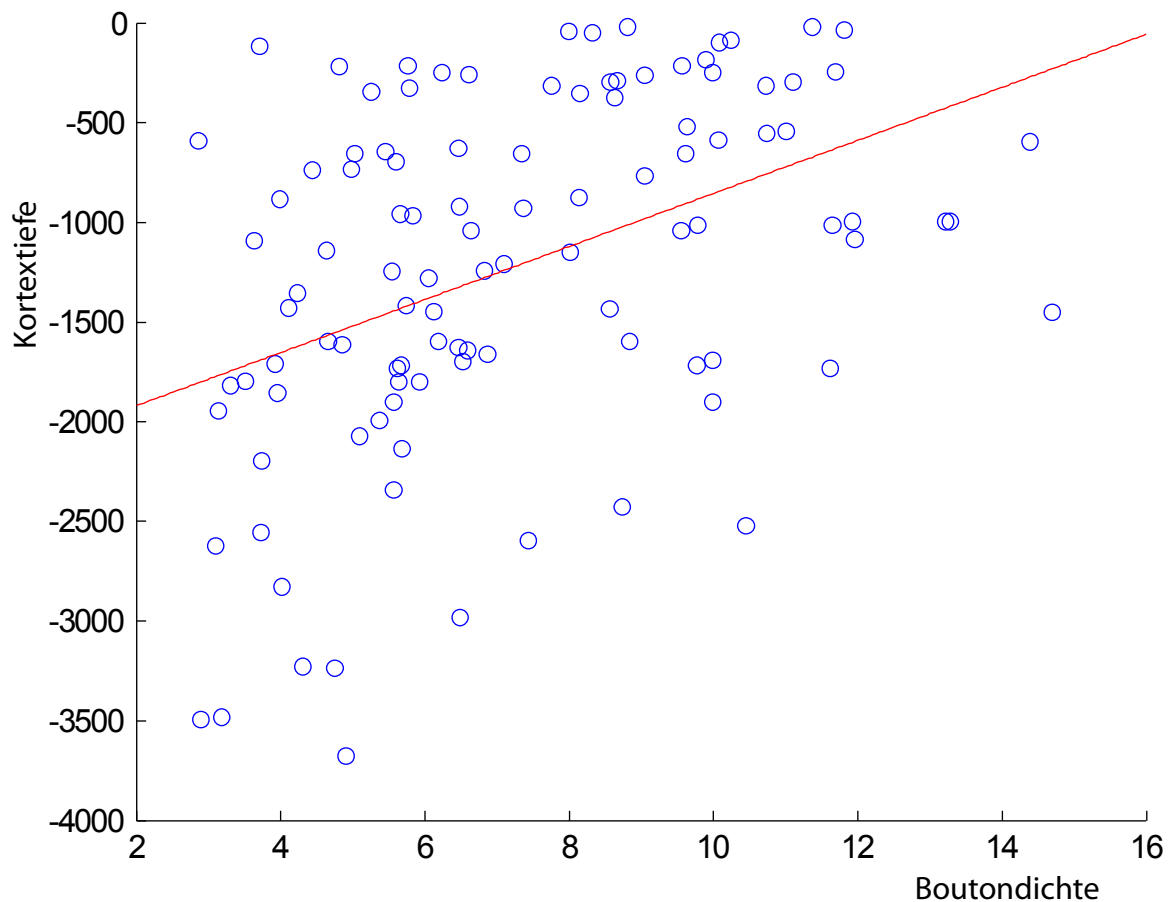
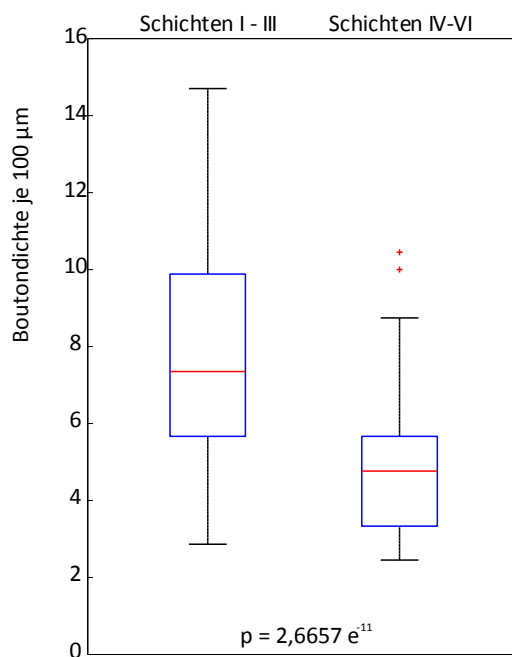


Abb. 60: Darstellung der Boutondichte bezogen auf die Kortextiefe

Die Kreise geben die Datenpunkte der Boutondichte (je 100 μm) bezogen auf die Kortextiefe wieder, die rote Linie den linearen Trend. Die Signifikanzprüfung s. Abb. 60



Die Boutondichten zeigen den Trend einer Zunahme in den oberen Schichten (s. Abb. 60). Der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test wies den Unterschied der Mediane der oberen gegenüber den unteren Schichten als signifikant aus (s. Abb. 61, p-Wert von $2,6657 \cdot 10^{-11}$). Mit Ausnahme der Schicht IV zeigen die Mediane der Schichten eine Zunahme der Boutondichte zu den oberen Schichten hin (s. Abb. 62)

Abb. 61: Signifikanztest: Schichten I-III gegen IV-VI

Die Kastengrafik vergleicht die Schichten I – III mit den Schichten IV – VI hinsichtlich der Boutondichten. Der Wilcoxon-Test weist die Mediane mit einem p-Wert von $2,7 \cdot 10^{-11}$ als signifikant unterschiedlich aus.

Wiedergegeben sind die Mediane, die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

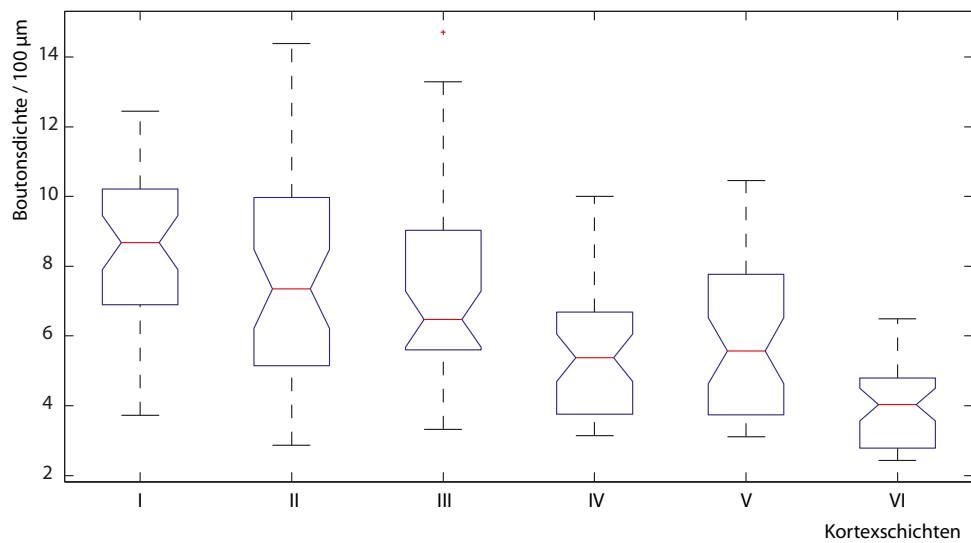


Abb. 62: Boutonverteilung in den Schichten

Die Grafik ermöglicht einen Medianvergleich in den Schichten. Es wird deutlich, dass die Mediane von Schicht zu Schicht sinken (Ausnahme Schichten IV). Für Schicht IV liegen jedoch nur wenige Werte (5) vor.

Wiedergegeben sind die Mediane, die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

3.5. Der prämotorische Kortex

Ein Gewebe des prämotorischen Areals wurde quantitativ erfasst. Seine Charakterisierung wird analog zur Dokumentation des primären Motorkortex in gedrängter Form vorgestellt. Der Nachweis des Areals wurde anhand von Nissl-Schnitten und dem Vergleich mit Schnittbildern aus dem Atlas von v.Economo und Koskinas (1925) geführt (s. Abb. 63).

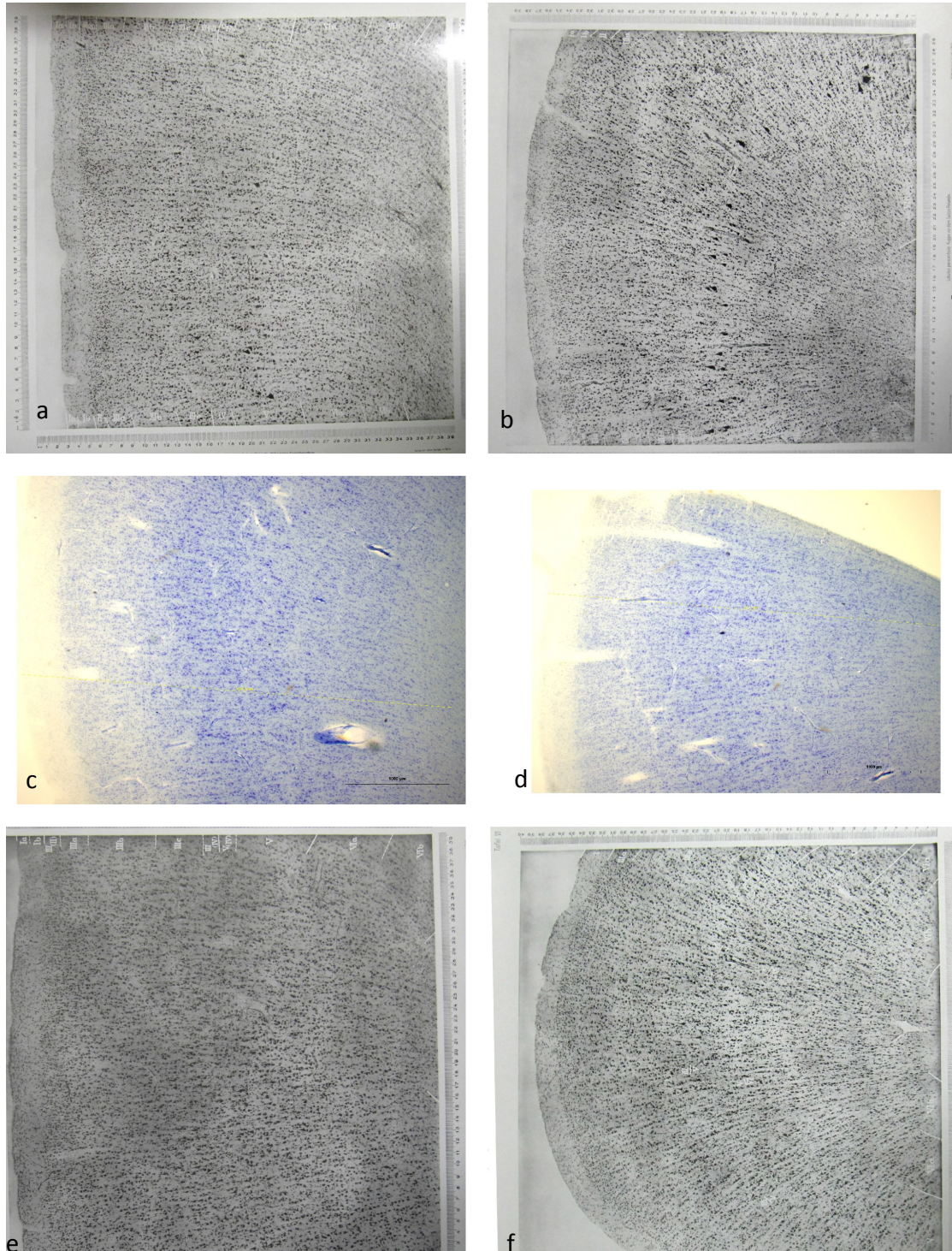


Abb. 63: Nachweis des prämotorischen Areals

Die Nissl-gefärbten Schnitte (c+d) wurden verglichen mit Referenzbildern (v.Economo, Koskinas 1925, Tafeln II, III, V und VI) sowohl des primären Motorkortex mit den deutlich sichtbaren Betzzellen (a+b) wie des prämotorischen Kortex (e+f). Das Fehlen der Betzzellen und der relativ gleichmäßige Aufbau der Kortexschichten wiesen das Gewebe als Teil des prämotorischen Kortex aus.

3.5.1. Das Erscheinungsbild der intrinsischen Verbindungen

Auch im prämotorischen Kortex finden wir ein weitreichendes Netzwerk intrinsischer Verbindungen, die ebenfalls patchig in Erscheinung treten (s. Abb. 64 und 65).

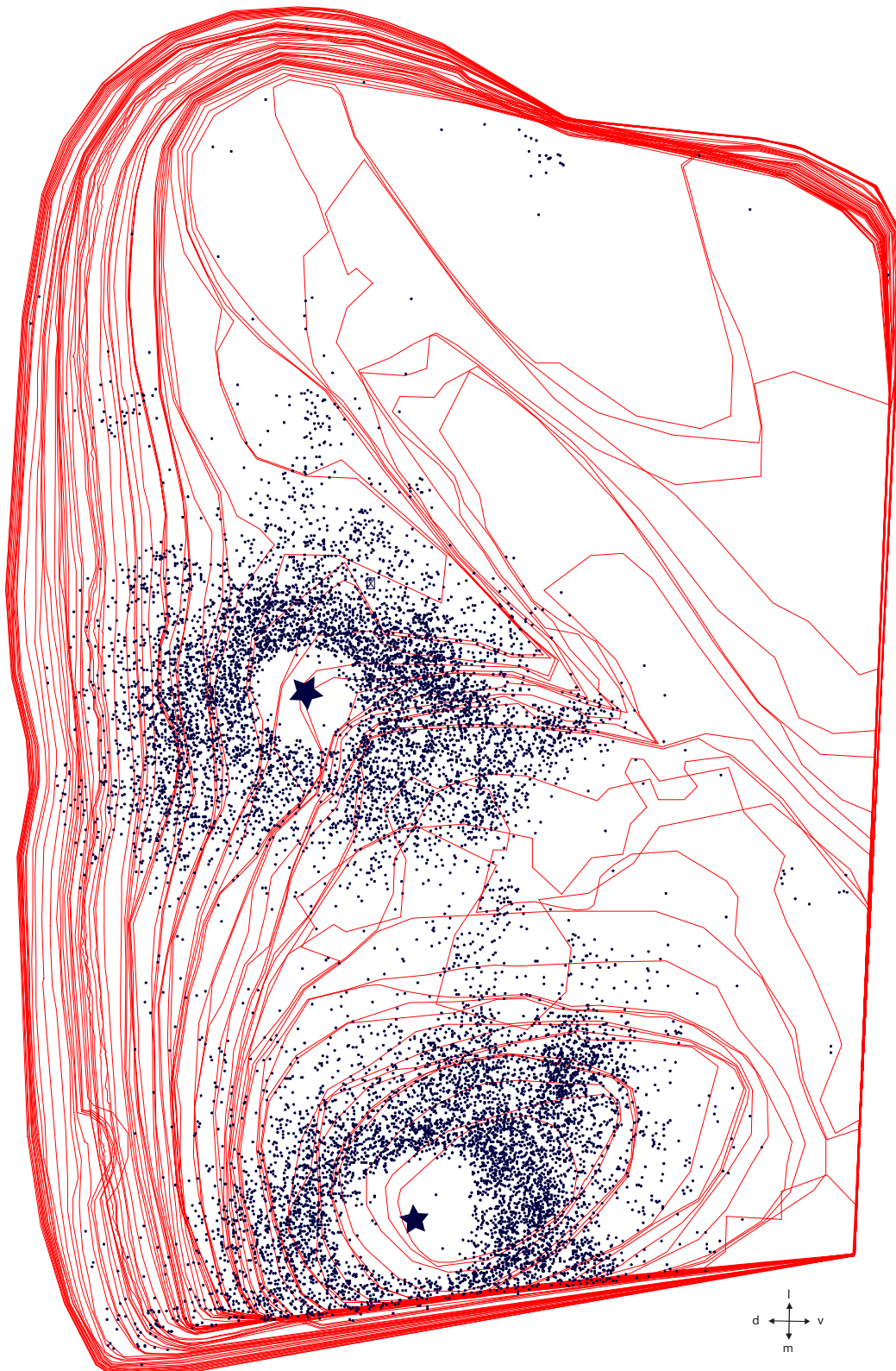
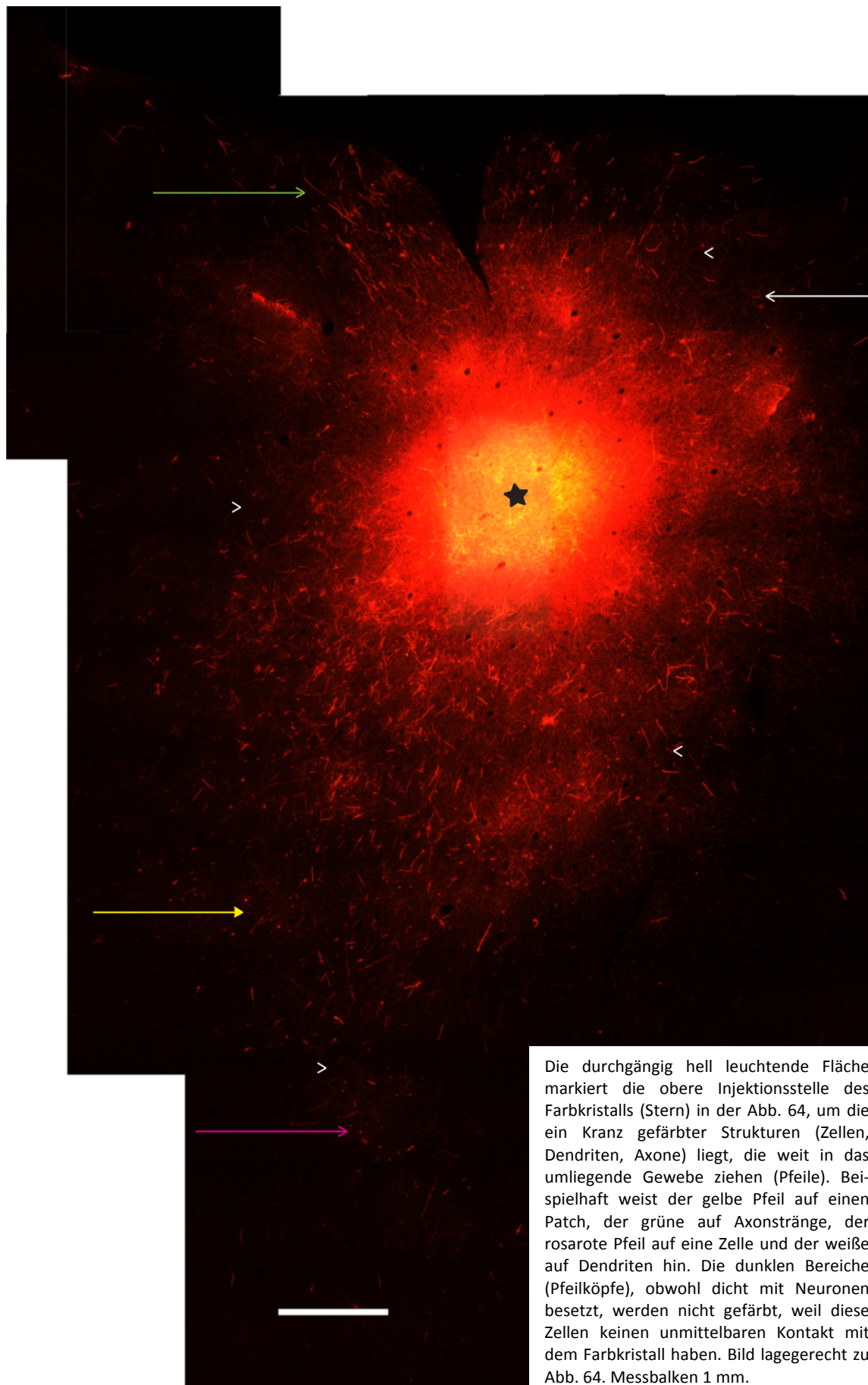


Abb. 64: Geweberekonstruktion anhand der Schnittzeichnungen

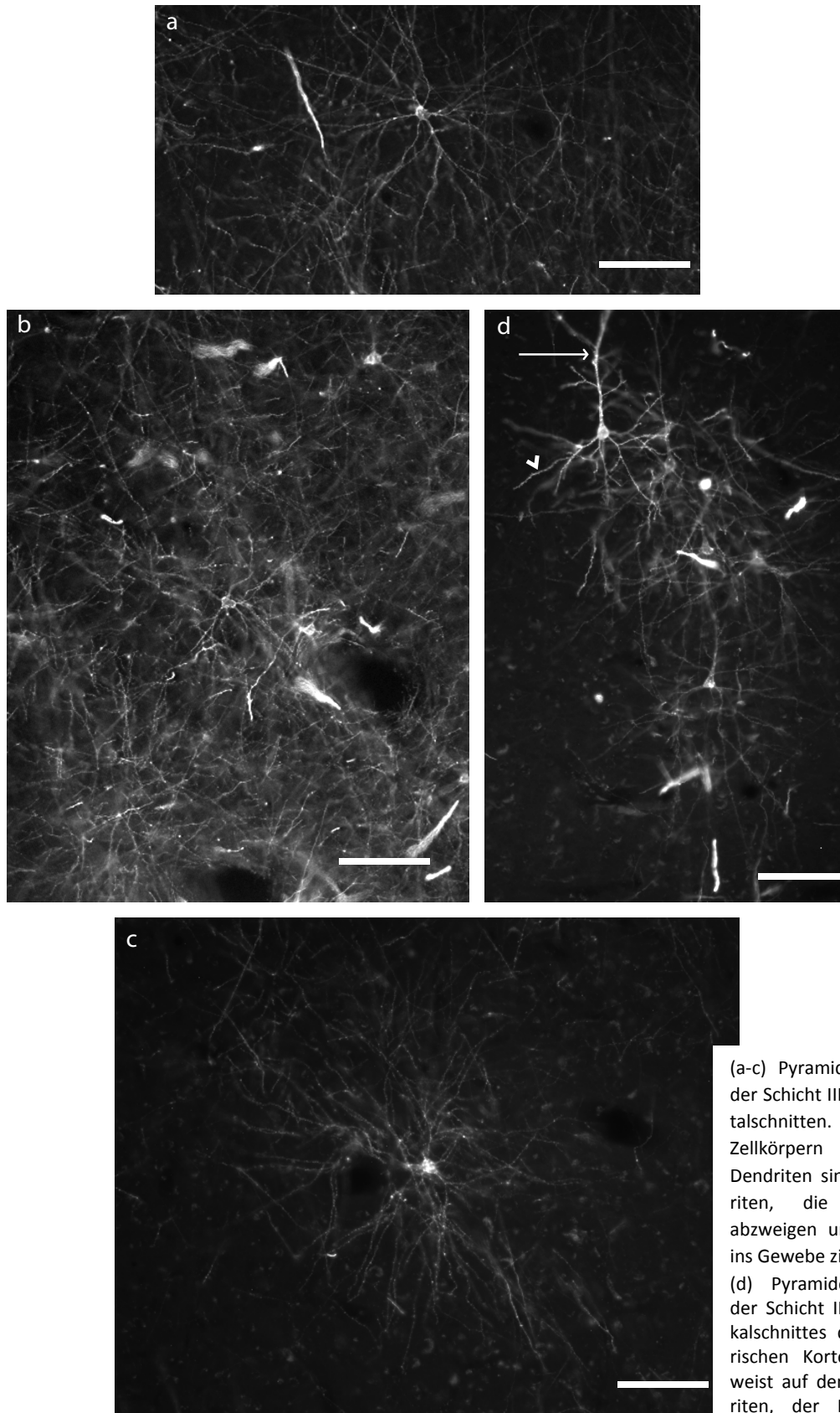
Das Bild zeigt die übereinander montierten Schnitte des Gewebes P8 (s. Abb. 65). Zu sehen sind die als dunkle Punkte registrierten Zellen. Die von den Zellmarkern umgrenzten zwei hellen Flächen (Sterne) entsprechen den beiden Injektionsstellen des Dil-Kristalls. Die roten Linien geben die Gewebekonturen wieder. Messbalken 1 mm.



Die durchgängig hell leuchtende Fläche markiert die obere Injektionsstelle des Farbkristalls (Stern) in der Abb. 64, um die ein Kranz gefärbter Strukturen (Zellen, Dendriten, Axone) liegt, die weit in das umliegende Gewebe ziehen (Pfeile). Beispielsweise weist der gelbe Pfeil auf einen Patch, der grüne auf Axonstränge, der rosarote Pfeil auf eine Zelle und der weiße auf Dendriten hin. Die dunklen Bereiche (Pfeilköpfe), obwohl dicht mit Neuronen besetzt, werden nicht gefärbt, weil diese Zellen keinen unmittelbaren Kontakt mit dem Farbkristall haben. Bild lagegerecht zu Abb. 64. Messbalken 1 mm.

Abb. 65: Übersicht über die Injektionsstelle im prämotorischen Kortex

Die Zellen sind im Wesentlichen in einem Bereich bis zu 7 mm um die Injektionsstelle verteilt, mit einigen Verbindungssträngen bis zu 12 mm (gemessene Entfernung: 11722 μm), die ungleichmäßig verteilt sind. Auch hier dominieren die Pyramidenzellen (s. Abb. 66).



(a-c) Pyramidenzellen aus der Schicht III von Horizontalschnitten. Die von den Zellkörpern abgehenden Dendriten sind Basaldendriten, die sternförmig abzweigen und horizontal ins Gewebe ziehen.

(d) Pyramidenzellen aus der Schicht III eines Vertikalschnittes des prämotorischen Kortex. Der Pfeil weist auf den Apikaldendriten, der Pfeilkopf auf einen Basaldendriten.

Abb. 66: Pyramidenzellen im prämotorischen Kortex, Messbalken 100 μm

3.5.2. Analyse der Zellverteilung

Zur Differenzierung der Zellverteilung wurden Schollanalysen (s. Abb. 67) durchgeführt. Normierungen: Gesamtzellzahl (A+B), Zellzahlen der Schichten (D) und Schollringe (C).

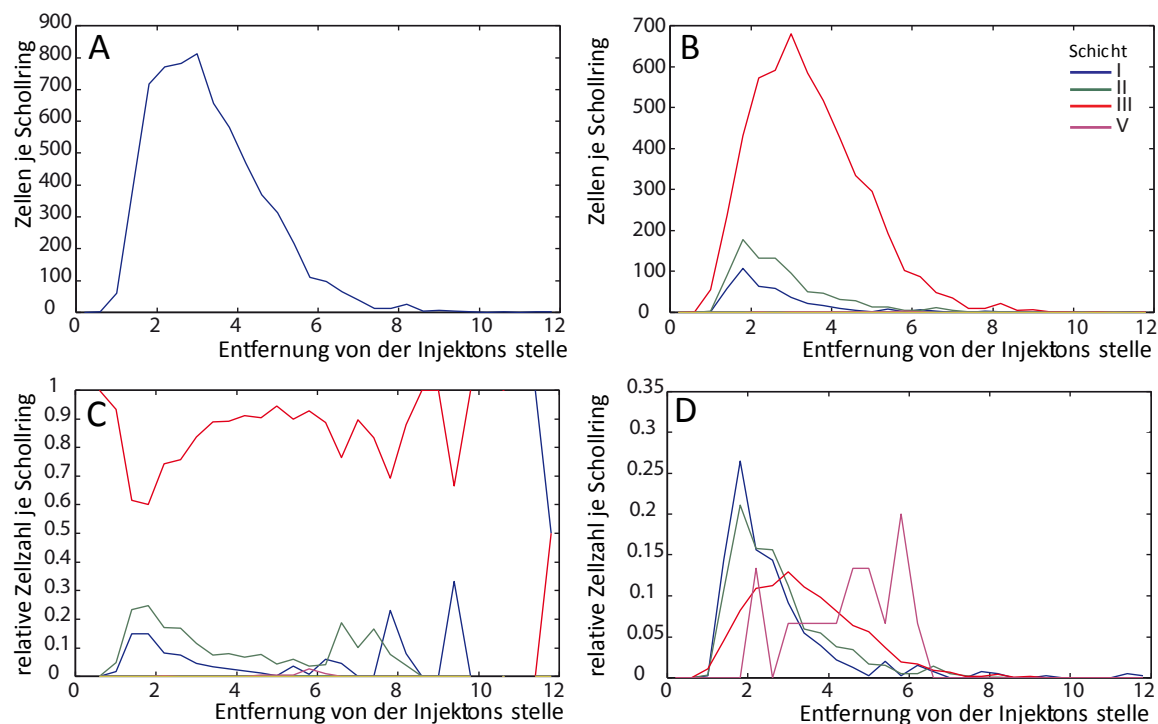


Abb. 67: Schollanalysen der Zellverteilung im prämotorischen Kortex und dessen Schichten

Die Grafiken geben Schollanalysen der Zellverteilung im Gewebe P8 wieder (Schollringbreite 400 μm).

Häufigkeit der Zellen im Abstand von der Injektionsstelle A) und bezogen auf die Zellschichten (B) normiert auf alle Zellen, C) Zellverteilung normiert auf den jeweiligen Schollring, D) normiert auf die jeweilige Schicht.

Die Zellen finden sich vor allem in Schicht III, mit einem Maximum im Abstand von 3 mm von der Injektionsstelle. Schicht V ist nur durch wenige Zellen repräsentiert, in Schicht VI wurden keine Zellen gefunden. Schicht IV wurde nicht ausgewiesen. Schichten sind farbkodiert (s. Legende).

Die Grafiken zeigen, dass der Hauptanteil der Zellen von Schicht III mit einem Maximum in einer Entfernung von 3 mm zur Injektionsstelle getragen wird. Sie enthält 81 % aller Zellen, die auch die weit entfernten Zellen einschließen (s. Abb. 67B). Schicht V ist nur durch wenige Zellen repräsentiert, in Schicht VI wurden keine Zellen gefunden. Schicht IV wurde nicht ausgewiesen. Die Schichtzuordnung gibt Tabelle 8 wieder⁵⁶.

Schicht	Prozent	Dicke in μm	Tiefe von ... bis in μm
I	11	307	0 – 307
II	7	188	307 – 495
III	43	1183	495 – 1678
IV	0	0	-
V	14	399	1678 – 2077
VI	25	697	2077 – 2774
SUMME	100	2774	

Tab. 8: Kortexschichtendicke

⁵⁶ Im Anhang 56 wird die Ermittlung der Kortex- und Schichtdicken vorgestellt.

In der Kortextiefe sind die Zellen schwerpunktmäßig in Schicht III (s. Abb. 68A) über den gesamten gefärbten Bereich verteilt. Die Tiefenverteilung in Abhängigkeit von der Entfernung zeigt, dass die Zellen in Schicht I und II in der Nähe und im mittleren Entfernungsbereich von der Injektionsstelle zu finden sind, die vereinzelt Zellen der Schicht V in mittlerer Entfernung (s. Abb. 68B).

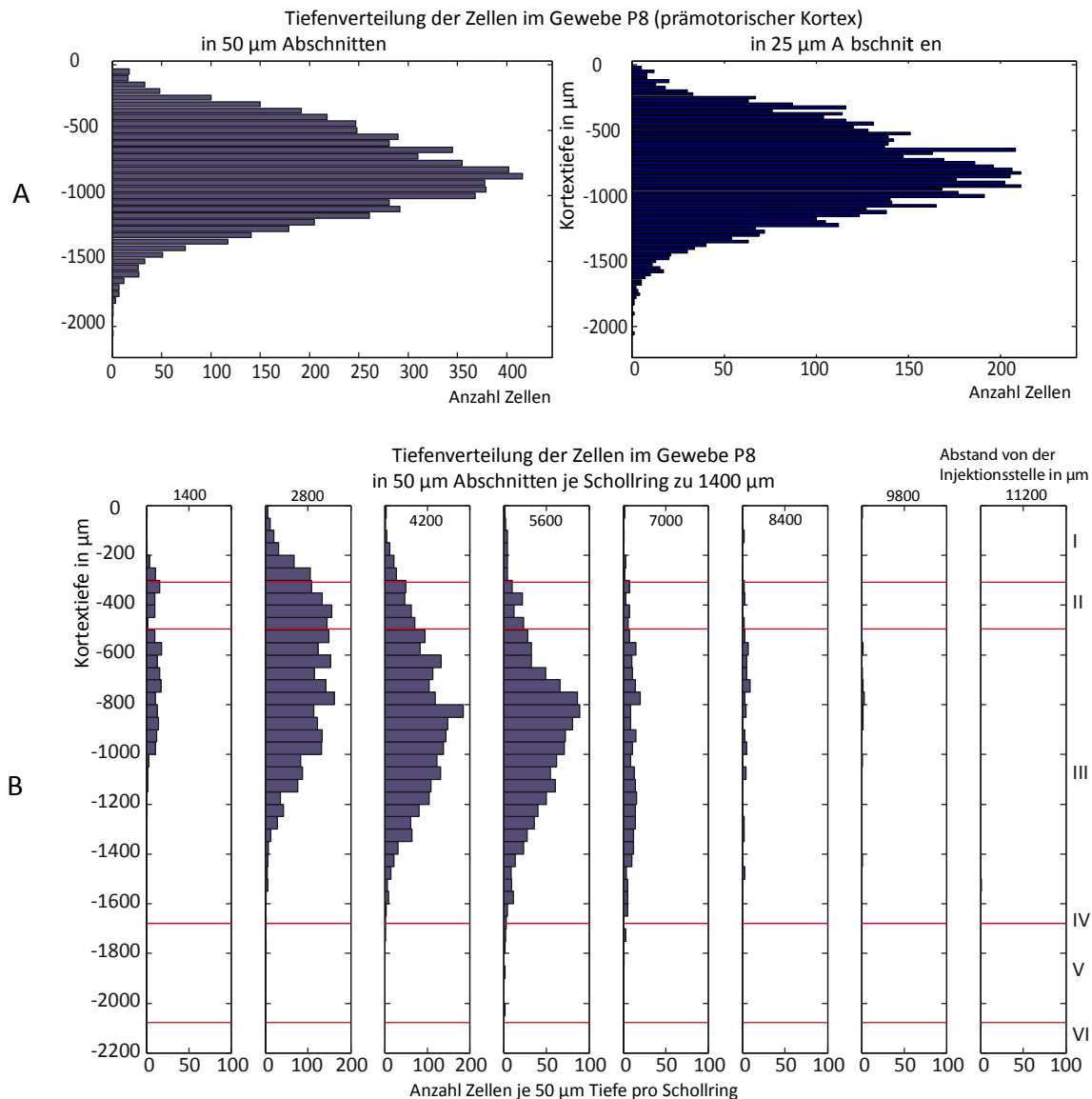


Abb. 68: Schollanalysen der Zellverteilung in der Tiefe

A) Tiefenverteilung aller Zellen in zwei unterschiedlichen Summierungsschritten (25 und 50 μm).

B) Zellverteilung in der Tiefe je Schollring von 1400 μm Breite (unterschiedliche Skalen der Zellanzahl je Schollring beachten). Die Zellen sind auch in der Tiefe vor allem in Schicht III zu finden, in den Schichten I und II vor allem in der Nähe der Injektionsstelle, Zellen der Schicht V vereinzelt in mittlerer Entfernung.

Um die Zellverteilung näher zu untersuchen, wurden die Kennzahlen analog zum primären Motorkortex ermittelt. Die Kennzahlen, arithmetische Mittelwerte, Mediane und Modi, sind wie folgt verteilt:

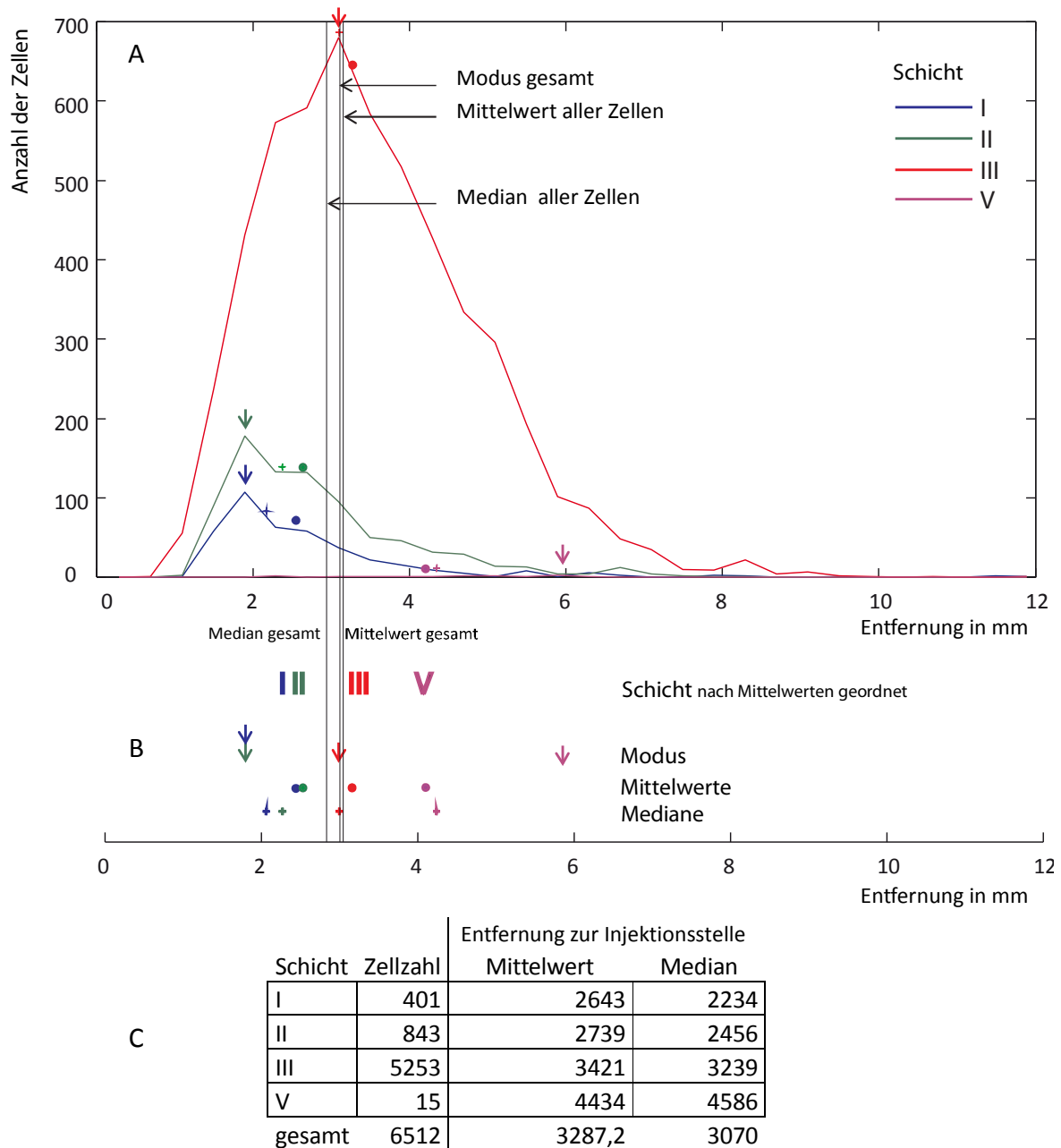


Abb. 69: Schollanalysen der Zellverteilung: Mittelwerte, Mediane und Modi

A) In die Schollanalyse wurden die Kenngrößen Modus (senkrechter Pfeil), Mittelwert (Punkt) und Median (Kreuz) eingezeichnet und in einer Leiste unterhalb der Grafiken zum besseren Vergleich nebeneinander abgetragen (B). Die Schichtzugehörigkeit ist farbkodiert (s. Legende). Mit drei durchgehenden Linien wurde der Mittelwert, Modus und Median für alle Zellen eingezeichnet. Die Werte der Schichten I + II liegen näher zur Injektionsstelle, die der Schicht III mittig (um die Gesamtkennzahlen) und die der Schicht V peripherer. Die Zellen der Schicht III dominieren in jeder Hinsicht das Erscheinungsbild.

c) Datentabelle mit der Zellanzahl insgesamt und je Schicht, zugeordnet die Mittelwerte und Mediane der Entfernungen der Zellen zur Injektionsstelle.

Die Kennzahlen für das gesamte Gewebe liegen eng beieinander im Abstand von 3 mm von der Injektionsstelle. Die Kennzahlen für die Schichten lassen sich ordnen, wobei die der Schichten I + II näher zur Injektionsstelle liegen, was besonders am Modus (Pfeile) und Median (Kreuze) abzulesen ist, während die Werte des arithmetischen Mittels von der Injektionsstelle entfernter liegen. Angesichts der Mengenverhältnisse ist verständlich, dass sich die Kennzahlen der Schicht III mittig (um die Gesamtkennzahlen herum) grup-

pieren. Die wenigen Zellen der Schicht V liegen entfernter von der Injektionsstelle im mittleren Bereich. Die Zellen der Schicht III dominieren in jeder Hinsicht das Erscheinungsbild. Die Zellverteilung ist asymmetrisch.

Richtungsverteilung der Zellen im Gewebe P8 (prämotorischer Kortex)

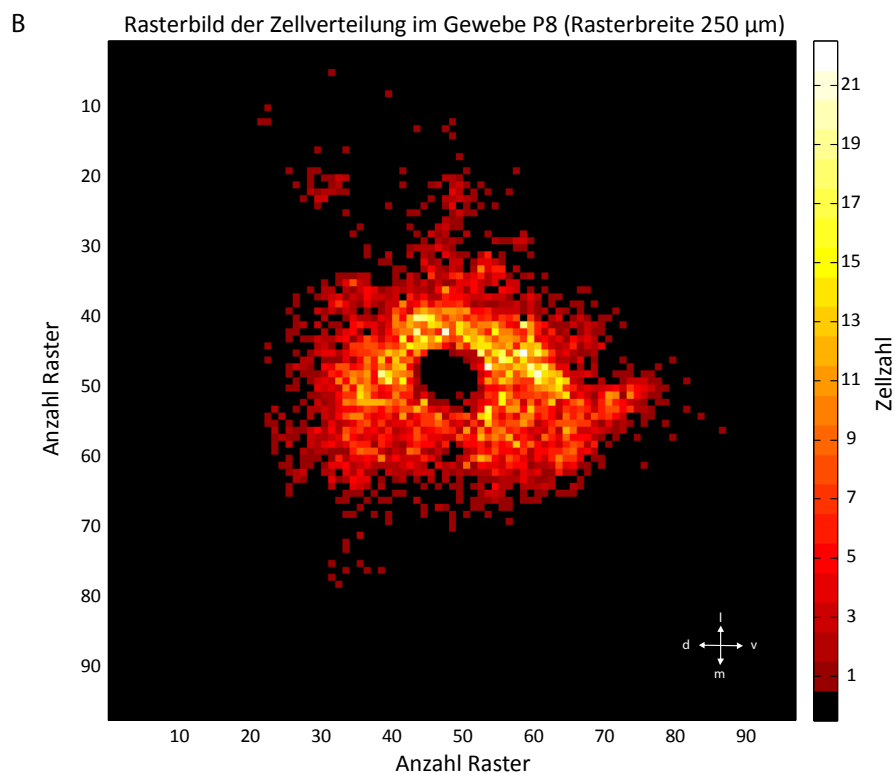
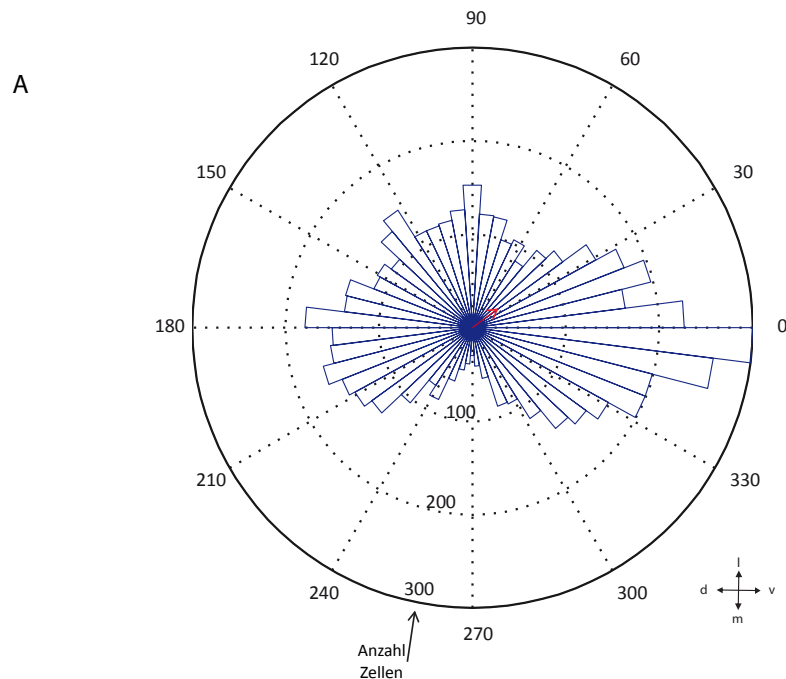


Abb. 70: Ausrichtung und Rasterung der Zellverteilung

A) Polares Histogramm der Zellverteilung um die Injektionsstelle. Die Grafik gibt an, wie viele Zellen in einem Sektor von 7,2 Grad und damit in einer bestimmten Richtung liegen. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an, seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung (normiert auf die maximale Zellzahl der Grafik).

B) Die Rasterung der Zellverteilung zeigt, dass die Zellen gruppiert und nicht gleichmäßig verteilt sind. Farbgebung der Rasterfelder s. Legende rechts.

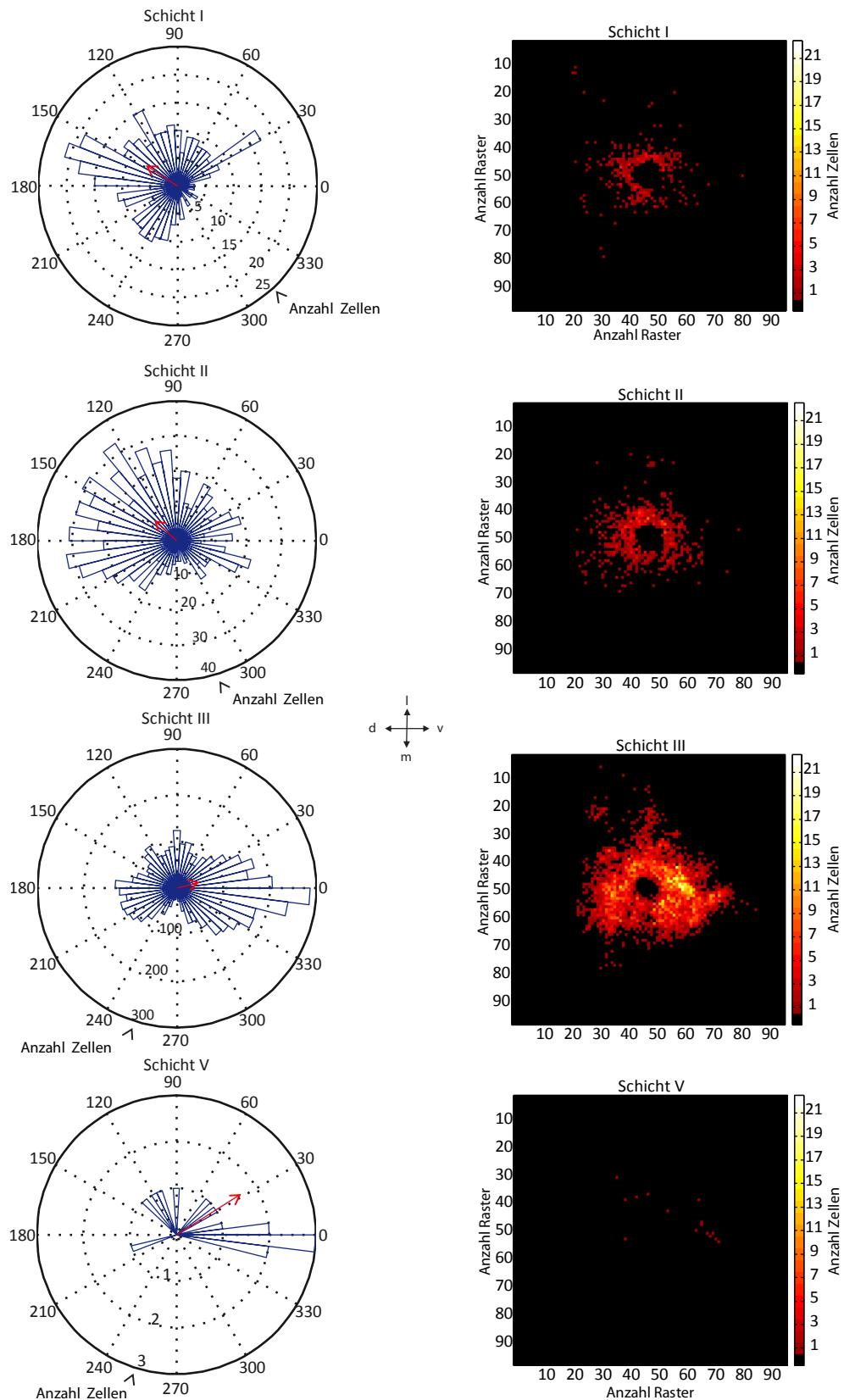


Abb. 71: Rasterung und Ausrichtung der Zellverteilung in den Schichten

Die Zusammenstellung präsentiert auf der rechten Seite die gerasterte Zellverteilung in den Schichten I - III + V des prämotorischen Kortex (Rasterkantenlänge 250 μm , Farbgebung s. Legende). Auf der linken Seite wird die Summierung der Zellen in Segmenten von 7,2 Grad und damit eine Richtungsabhängigkeit der Häufigkeit dargestellt. Unterschiedliche Zellschichtskalierungen der polaren Schichtstatistiken beachten. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an, seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung (normiert auf die maximale Zellzahl der Grafik). Das Lagekreuz ist für alle Grafiken gültig.

Die Neurone sind patchig verteilt und zeigen eine asymmetrische Ausrichtung (s. Abb. 70 und 71). Die patchige Struktur der Neuronenverteilung wird durch Rasterung veranschaulicht. Dazu wird ein Raster über die Fläche der verteilten Neurone gelegt und die Zellen in jedem Rasterfeld ausgezählt. Die gewählte Kantenlänge der Raster mit 250 μm entspricht dem Durchschnittswert der Patch-Radien von 237 μm (s.u. Tab. 9) und kann damit die Gruppierung gut erfassen, auch wenn das Raster die Patche nicht mittig deckt.

Die bevorzugte Richtung wird durch eine zirkulärstatistische Auswertung erfasst. Das polare Histogramm der Zellverteilung um die Injektionsstelle gibt an, wie viele Zellen in einem Sektor von 7,2 Grad und damit in einer bestimmten Richtung liegen. Der rote Pfeil gibt die bevorzugte Richtung der Zellverteilung an (Richtungsmittelwert aller Zellen), seine Länge das Ausmaß der Richtungsbevorzugung (normiert auf die maximale Zellzahl der Grafik). Die Signifikanz der asymmetrischen Verteilung wurde mit dem Rayleightest bezogen auf eine gleichmäßige Verteilung ermittelt (vgl. Kap. 2.3.8. und 3.4.3.) und als gesichert ausgewiesen (p-Wert für die gesamte Zellverteilung: 2.8049 e-039).

Für die Schichten ergaben sich folgende p-Werte:

I: $p = 7.2718 \text{ e-}020$

II: $p = 8.6089 \text{ e-}025$

III: $p = 1.0497 \text{ e-}064$

V: $p = 0.0099$

Für die Schichten I – III ist die Asymmetrie als signifikant ausgewiesen, für die Schicht V nicht mit dieser Eindeutigkeit, was mit der geringen Zellzahl zusammenhängt.

In der Gesamtverteilung liegt eine lateral-ventrale Richtungsbevorzugung vor, also in Richtung zu dem posterior davon liegenden primären Motorkortex. Interessant ist die Zellverteilung in den Schichten, in denen die dorso-laterale Richtungsbevorzugung der Schichten I und II in etwa senkrecht zu der der Schicht III liegt und die ventrale Richtungsorientierung der Schicht III im Gesamtbild abschwächt.

3.5.3. Patches

In allen Schichten wurden die mikroskopisch sichtbaren Patches eingezeichnet. Dies ergab folgendes Bild (s. Abb. 72). Die Patches liegen wie ein Hufeisen um die beiden Injektionsstellen, wobei dieses Bild auch für die untere Injektionsstelle zu gelten scheint, wegen der unteren Schnittkante jedoch nicht gesichert ist. Von diesen Patchansammlungen gehen einzelne fingerförmige Patchstränge ab.

Die Patches wurden vermessen und ergaben folgende Werte⁵⁷.

Patchgrößen	arithmetisches Mittel	Standardabweichung	StAbw in %
N = 681			
Entfernung zur Injektionsstelle	3287 Median 3070	1371	42
Interpatchdistanz (IPD)	973 Median bei 706	862	89
Fläche	268754 μm^2	206673	77
Durchmesser Maximum (μm)	683 μm	263	39
Durchmesser Minimum (μm)	465 μm	180	39
Umfang (μm)	1846 μm	695	38
Zellen je Patch	4,4	1,4	32

Tab. 9: Patchgrößen im prämotorischen Kortex

Übereinanderliegende Patches wurden als räumliche Gebilde exemplarisch rekonstruiert (vgl. Kap. 2.3.4.).

Patchesäulen aus dem prämotorischen Kortex

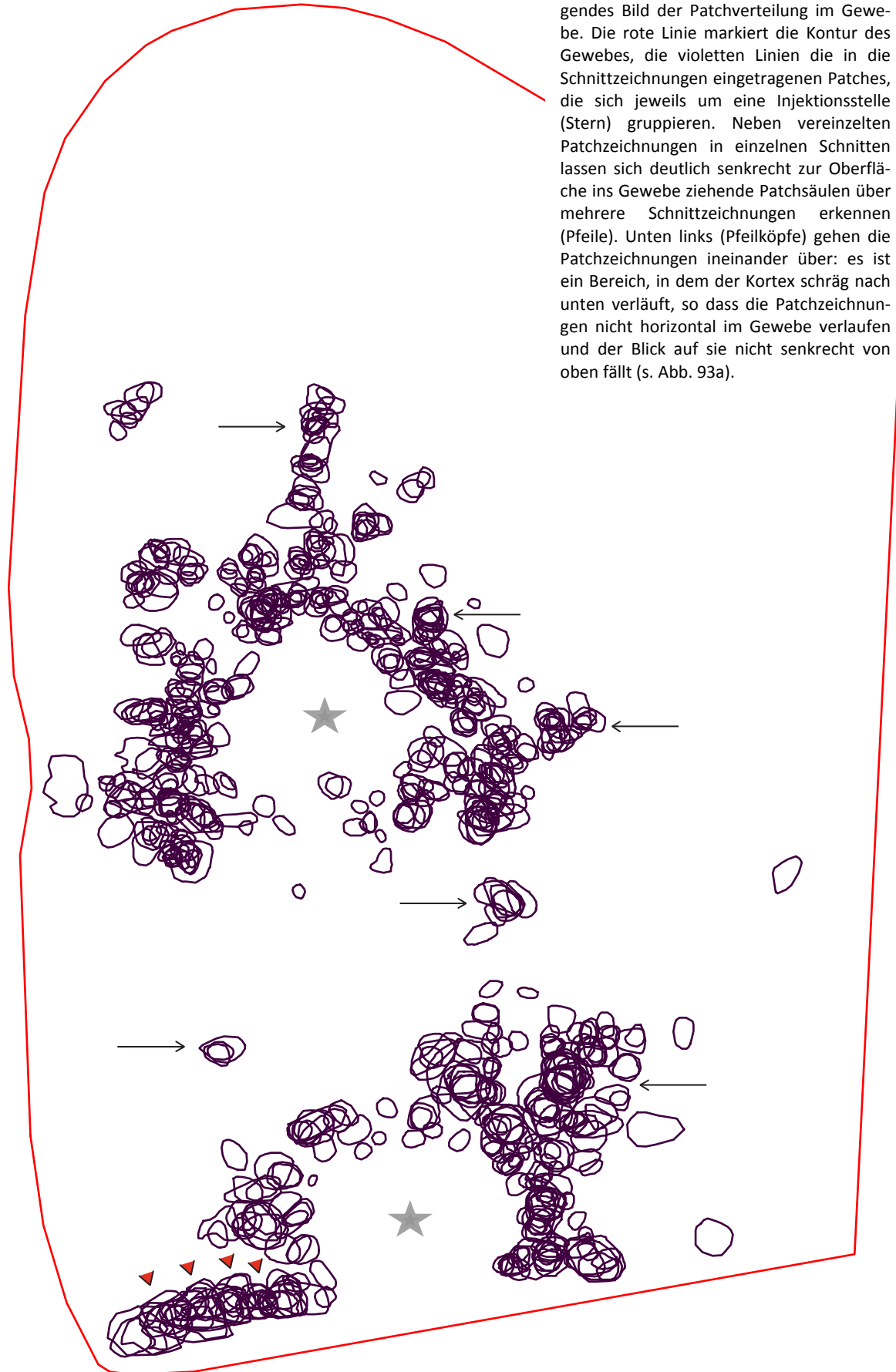
Patche	Fläche in μm^2	maximaler Durchmesser in μm	minimaler Durchmesser in μm	Zellzahl in Säule über und unter Patch	Patchvolumen in μm^3	Zellen im gesamten Volumen
1 Durchschnitt:	490477	967	642	34	618001555	61
2 Durchschnitt:	223944	646	437	28	389994164	90
3 Durchschnitt:	175570	582	396	17	137742741	23
4 Durchschnitt:	404420	923	577	25	315286726	33
5 Durchschnitt:	204134	629	414	6	214558341	24

Tab. 10: Volumen der Patchgewebesäulen

⁵⁷Volumenberechnungen, s. Anhang 57

Abb. 72: Patchzeichnungen prämotorischer Kortex
(vgl. Gewebebild Abb. 26)

Das Ergebnis der Geweberekonstruktion durch die Schnittzeichnungen ergab folgendes Bild der Patchverteilung im Gewebe. Die rote Linie markiert die Kontur des Gewebes, die violetten Linien die in die Schnittzeichnungen eingetragenen Patches, die sich jeweils um eine Injektionsstelle (Stern) gruppieren. Neben vereinzelten Patchzeichnungen in einzelnen Schnitten lassen sich deutlich senkrecht zur Oberfläche ins Gewebe ziehende Patchsäulen über mehrere Schnittzeichnungen erkennen (Pfeile). Unten links (Pfeilköpfe) gehen die Patchzeichnungen ineinander über: es ist ein Bereich, in dem der Kortex schräg nach unten verläuft, so dass die Patchzeichnungen nicht horizontal im Gewebe verlaufen und der Blick auf sie nicht senkrecht von oben fällt (s. Abb. 93a).



3.5.4. Dendriten

Auch im prämotorischen Kortex wurden neben den Patches Dendritenfelder vermessen. Ein Patch wurde mit einem Konfokalmikroskop dokumentiert, dabei entstanden die folgenden Aufnahmen von Dendritenbäumen (s. Abb. 74 u. 75)⁵⁸.

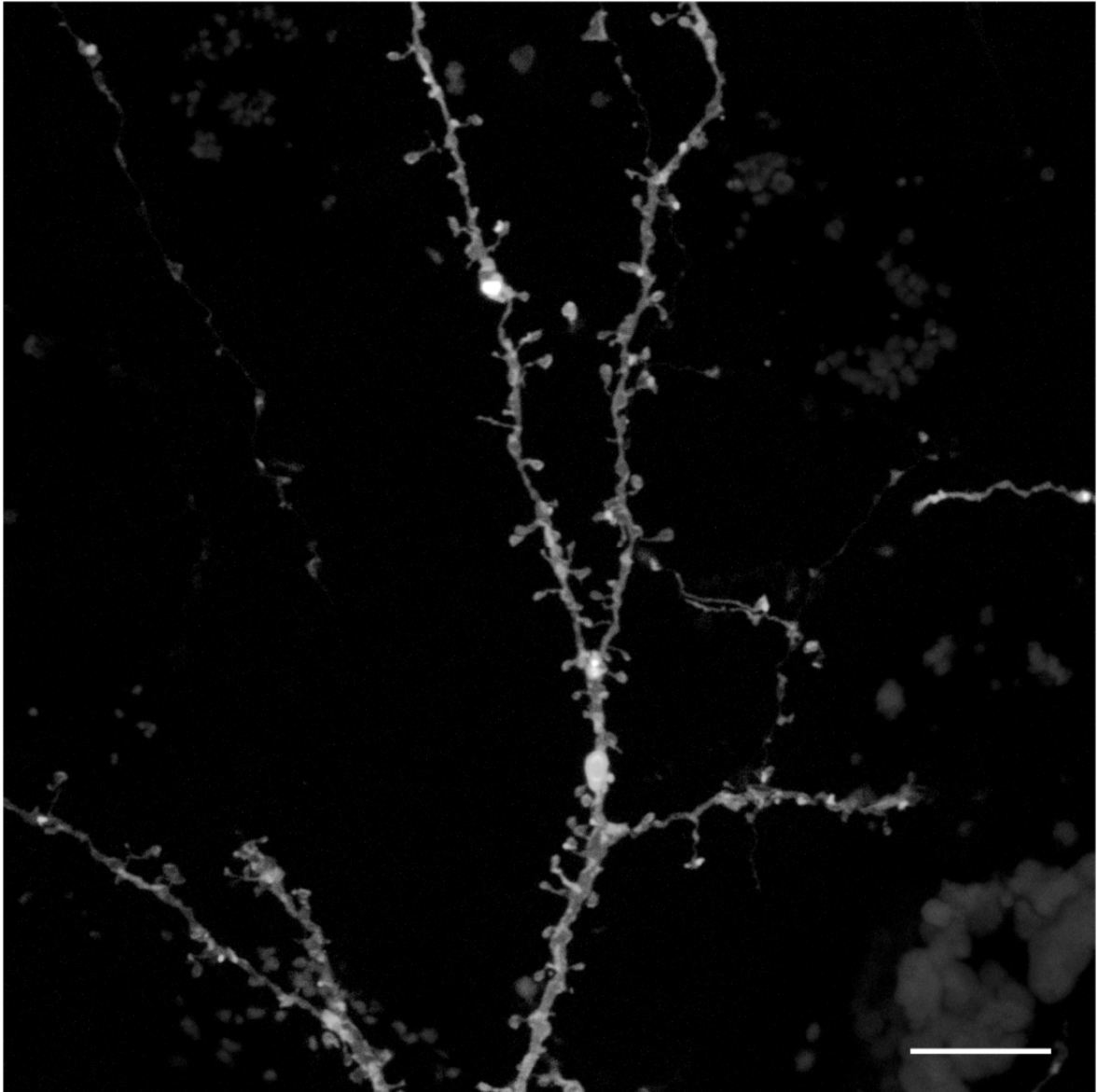


Abb. 73: Dendriten

Aufnahme eines Dendritenastes in einem Patch des prämotorischen Kortex. Es sind deutlich die gestielten Synapsen (Dornen) zu erkennen. Messbalken 10 μm

Bild: T. Piatkowski

⁵⁸ Zeichnungen von Dendritenfeldern finden sich im Anhang 58.

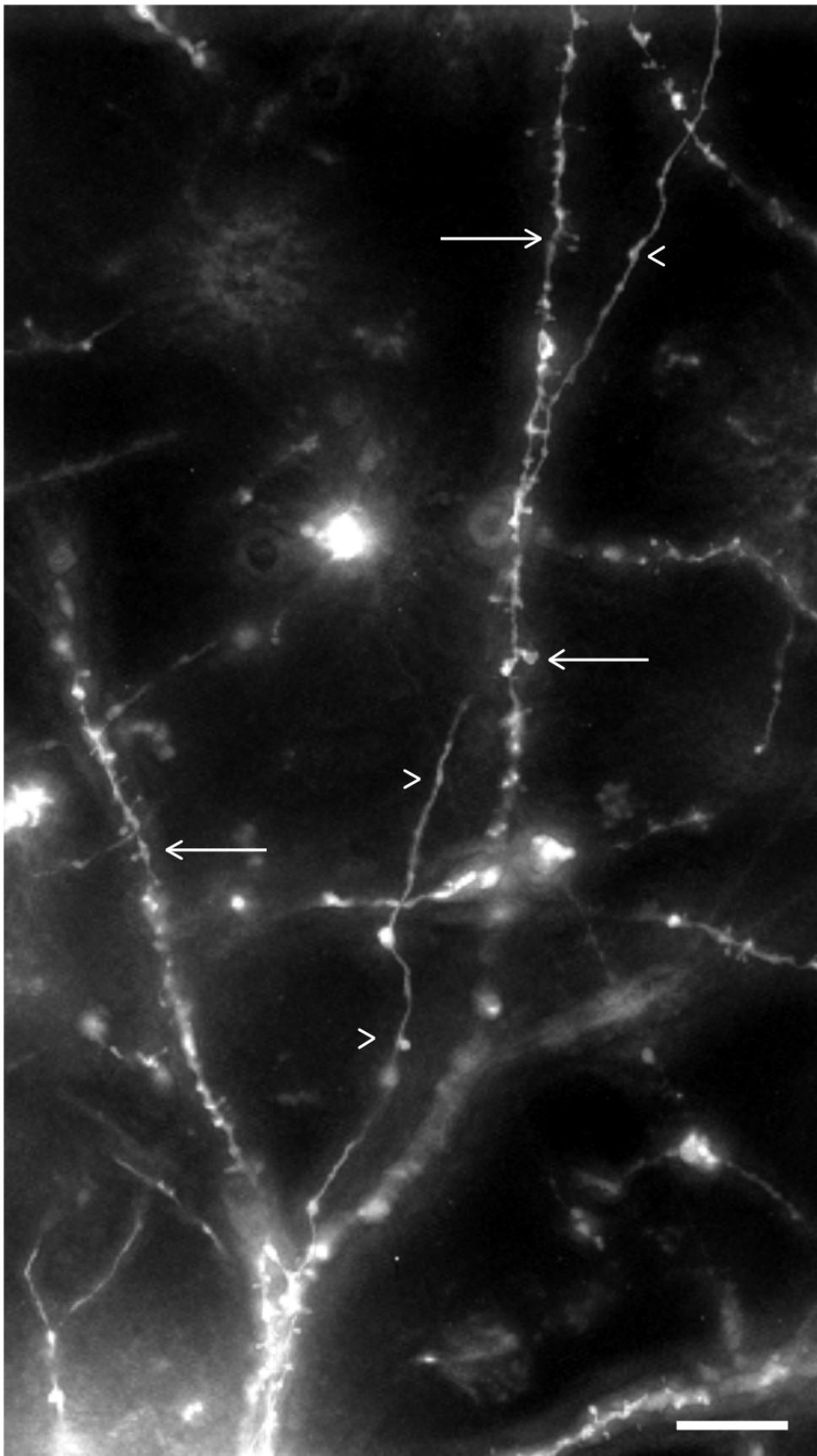


Abb. 74: Dendriten

Bild eines Dendritenastes mit vorbeiziehem Axon. Der dickere Dendritenast ist durch die gestielten Synapsen charakterisiert (Pfeile), während das sehr dünne Axon lediglich Verdickungen (Boutons) zeigt (Pfeilköpfe).

Messbalken 10 μm

Bild: T. Piatkowski

Um Patchgrößen und Dendritenfelder vergleichen zu können, wurden die Dendritenfelder vermessen.

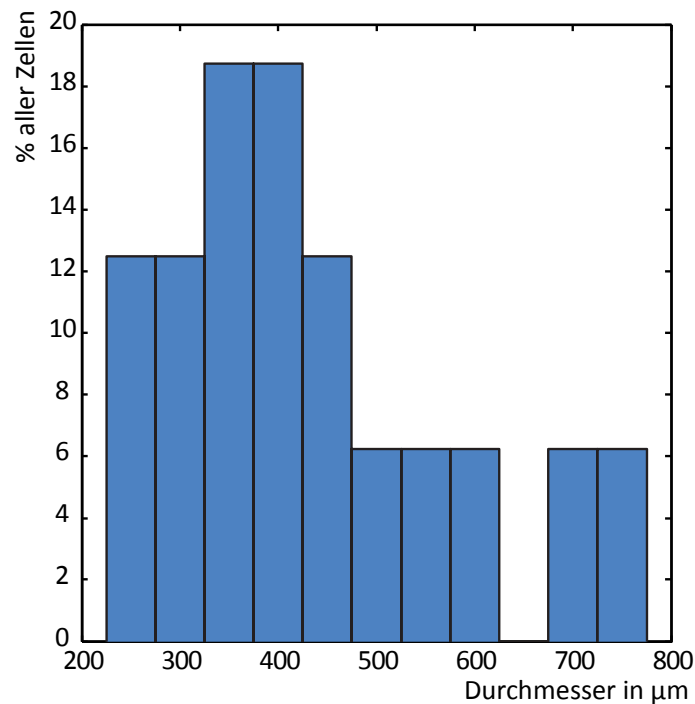


Abb. 75: Dendritenfelddurchmesser im prämotorischen Kortex
Die Dendritenfelddurchmesser überspannen eine Weite von 250 – 800 μm mit einem deutlichen Schwerpunkt um 350-400 μm Durchmesser. N = 42

Patch- und Dendritenfelddurchmesser wurden verglichen. Anstelle des Minimalwertes bei den Patchmessungen wurde für das Dendritenfeld der zweitgrößte Dendrit vermessen, um die Daten vergleichbar zu halten und der Dendritenaufspannung als Fläche einigermaßen gerecht zu werden (vgl. Kap. 2.3.5.). Der Vergleich der Patch- mit den Dendritenfelddurchmessern zeigt zweierlei: Die Mediane der Patchdurchmesser sind mehr als 20% größer als die Mediane der Dendritenfelddurchmesser und zeigen eine sehr viel größere Varianz, die sich an der Vielzahl der Extremwerte äußert (s. Abb. 76).

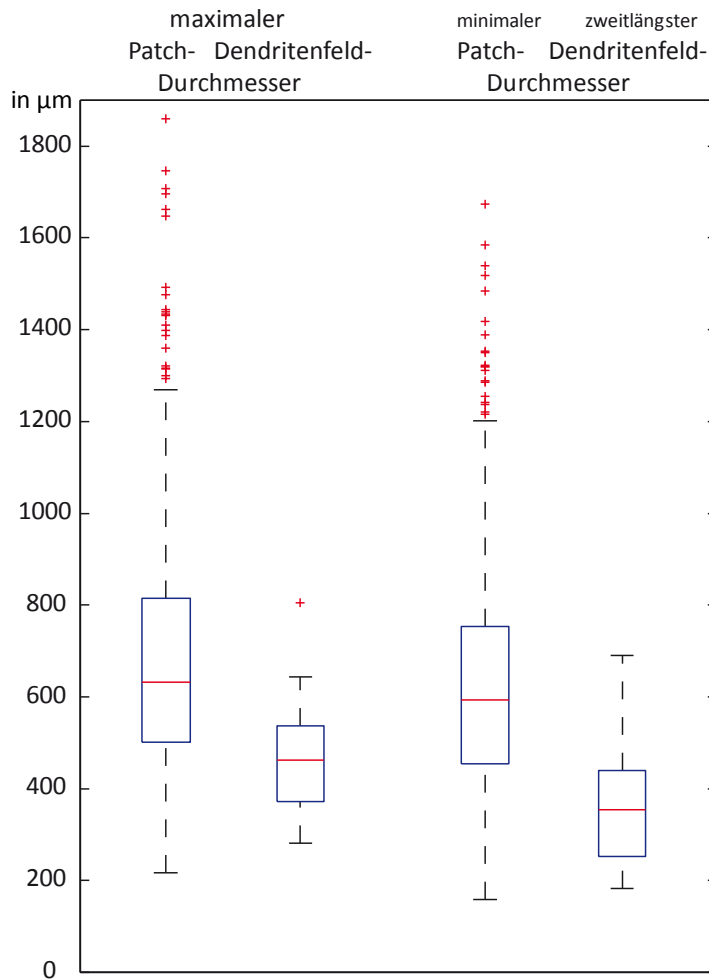


Abb. 76: Vergleich der Durchmesser von Patch- und Dendritenfeld

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linie im Kasten), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

Die Mediane der Patchdurchmesser sind mehr als 20% größer als die Mediane der Dendritenfelddurchmesser und zeigen eine sehr viel größere Varianz, die sich an der Vielzahl der Extremwerte äußert.

p-Werte für die maximalen Durchmesser: 4.7623×10^{-208} , für die minimalen Durchmesser: $p = 6.3203 \times 10^{-210}$

Ein vergleichbares Bild ergeben verständlicherweise die Flächenvergleiche. Der Median der Patchflächen ist um mehr als ein Drittel größer als der Median der Dendritenfeldflächen, zudem zeigen die Patchflächen eine sehr viel größere Varianz (s. Extremwerte).

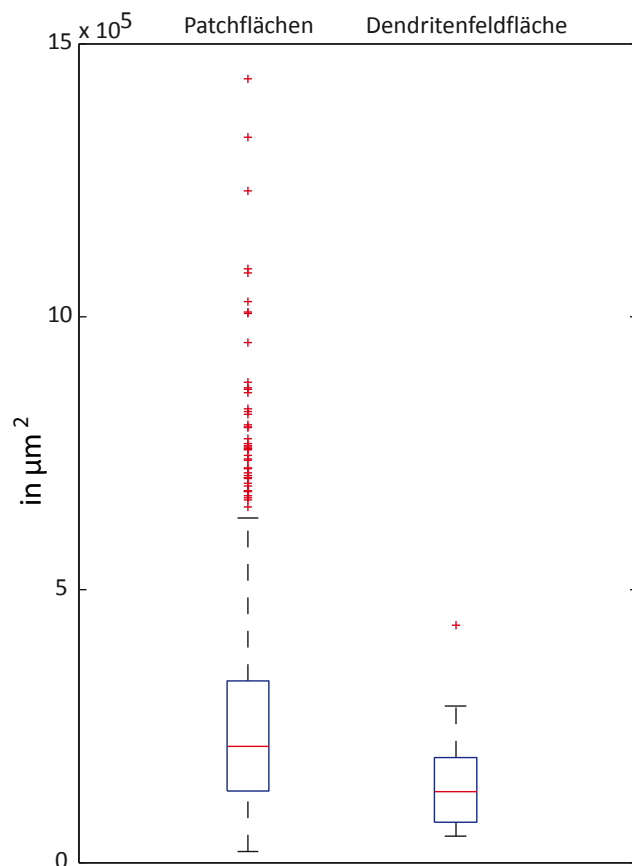


Abb. 77: Vergleich der Flächen von Patches mit Dendritenfeldern

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linie im Kasten), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

Der Vergleich der Patch- mit den Dendritenfeldflächen zeigt den um mehr als ein Drittel größeren Median der Patchflächen gegenüber dem Median der Dendritenfeldflächen und die größere Varianz der Patchflächen, die sich in der Vielzahl der Extremwerte zeigt.

Signifikanz: $p = 5.9324 \times 10^{-209}$

3.5.5. Boutondichten

Zu Beurteilung der Konnektivität wurde die Boutondichte ermittelt, die Zählungen im prämotorischen Kortex ergaben ein arithmetisches Mittel von $5,6 \pm 2,7$ Boutons en passant je $100 \mu\text{m}^{59}$. Analog zum primären Motorkortex wurde die Boutondichte zur Entfernung und zur Kortextiefe in Beziehung gesetzt (s. Abb. 78-81).

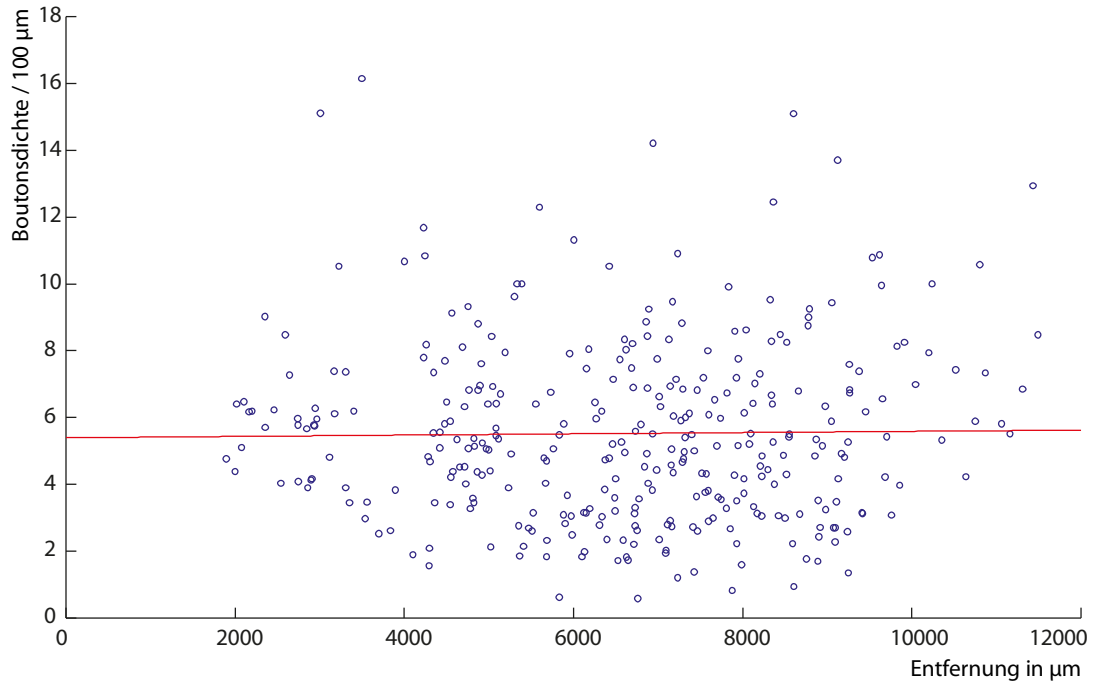


Abb. 78: Boutondichte bezogen auf die Entfernung im prämotorischen Kortex

Die Punkte geben die Boutondichte (je $100 \mu\text{m}$) in Abhängigkeit von der Entfernung zur Injektionsstelle wieder, die rote Linie den linearen Trend. Dieser signalisiert eine nicht signifikante Beziehung.

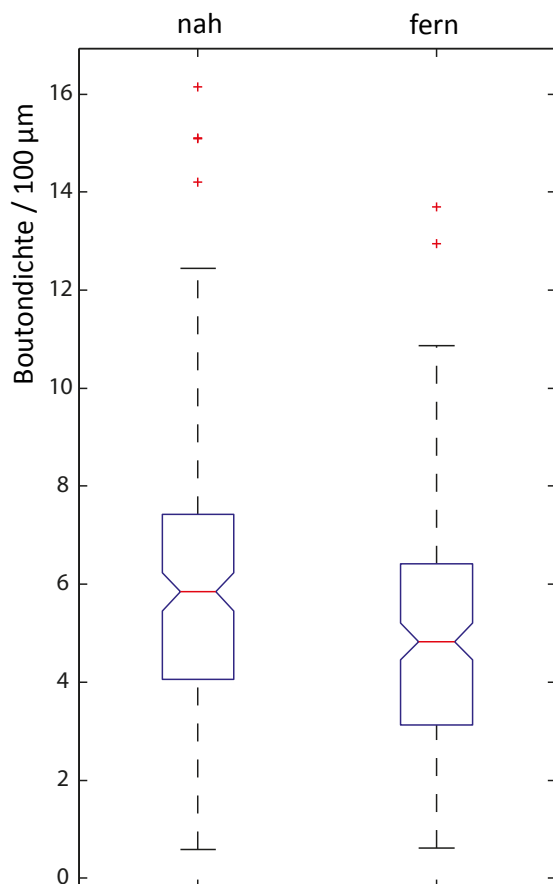
Abb. 79: Vergleich Boutondichte naher und ferner Bereiche

Signifikanz der Mediane ---->

Die Signifikanzprüfung (Wilcoxon-Test) der zur Injektionsstelle nahen Bereiche ($1000 - 6500 \mu\text{m}$) gegenüber den fernen Bereichen ($6500 - 12000 \mu\text{m}$) ergab keinen Unterschied der Mediane. Die Nullhypothese, dass die Mediane gleich sind, konnte nicht zurückgewiesen werden ($h=0$).

Erläuterungen zur Kastengrafik s. Abb. 81

Für eine Korrelation von Boutondichte und Entfernung waren weder ein Trend (s. Abb. 78) noch ein signifikanter Unterschied der Mediane der zur Injektionsstelle nahen gegenüber den fernen Bereich festzustellen (s. Abb. 79).



⁵⁹ Datentabelle s. Anhang 59

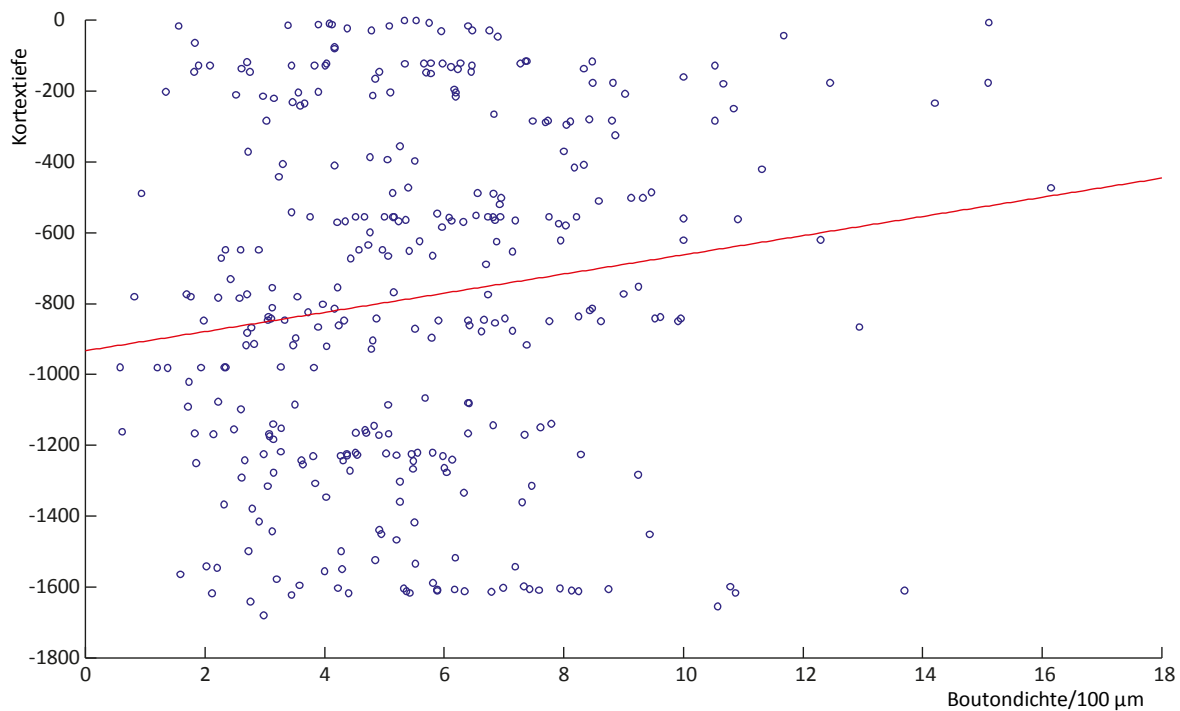


Abb. 80: Boutondichte bezogen auf die Tiefe
Die Punkte geben die Boutondichte in Abhängigkeit zur Kortextiefe wieder, die rote Linie den linearen Trend.

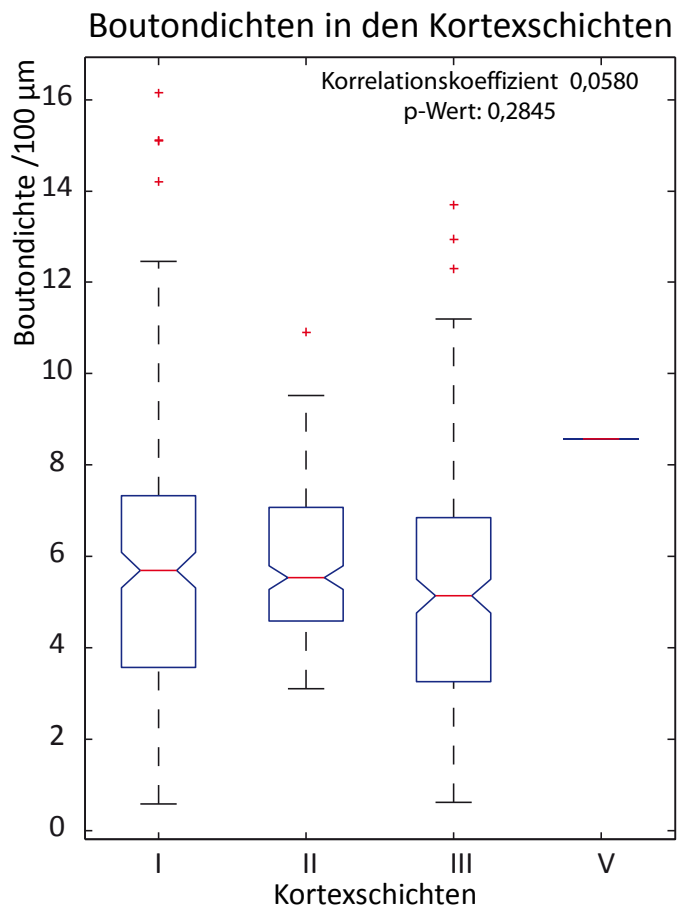


Abb. 81: Vergleich Boutondichte in den Schichten

<-----

Die Ordinate gibt die Boutondichte pro 100 µm wieder, die römischen Zahlen kennzeichnen die Kortexschichten. Die Signifikanzprüfung der Mediane ergab einen Korrelationskoeffizienten von 0,06 und einen P-Wert von 0,3 und kann damit die Gleichheit der Mediane nicht widerlegen.

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linie), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

Auch eine Korrelation der Boutondichten mit der Kortextiefe (s. Abb. 80) konnte nicht festgestellt werden. Der Vergleich der Boutondichten in den Schichten untereinander ergaben keinen signifikanten Unterschied (s. Abb. 81).

3.5.6. Vergleich von M1 und prämotorischem Kortex

Der Vergleich der Kennzahlen von primärem Motorkortex und prämotorischem Kortex wurde in folgender Tabelle zusammengefasst (s. Tab. 11).

Vergleich der Daten von primärem motorischem und prämotorischem Kortex

Merkmal	Primärer Motorkortex (M1)	Prämotorischer Kortex (Prä)
Entfernteste Zelle in μm	12000	12000
Patchfläche in μm^2	305879	268754
Patch-Durchmesser groß / klein in μm	703 / 528	683 / 465
Interpatchdistanz (IPD)	1385	973
Dendritenfelderdurchmesser in μm	464	420
Dendritenfeldfläche	175369	55822
Anzahl der Dendritenverzweigungen 1., 2., 3. ... Ordnung je Zelle	4,5 3,8 1,9 0,6 0,03	3,7 3,9 2,6 0,8 0,1 ohne Verzweigung 1,6
Boutondichte je 100 μm	7,2	5,6

Tab. 11: Vergleich von primärem Motorkortex und prämotorischem Kortex

Der prämotorische Kortex weist bei nahezu allen Kennzahlen etwas kleinere Dimensionen auf: Kleinere Patches und Dendritenfelder, weniger verzweigte Dendritenäste (bei etwas stärkerer Verzweigung, aber auch nennenswerten unverzweigten Dendritenästen) und geringere Boutondichte. Einzig die Reichweiten der intrinsischen Verbindungen sind gleich groß wie im primären Motorkortex. Die Zellzahlen liegen höher, was vermutlich mit der größeren Zelldichte des prämotorischen Areals verbunden ist. Da nur ein Gewebe des prämotorischen Areals analysiert wurde, sind die Aussagen jedoch mit dem Vorbehalt möglicherweise singulärer Ergebnisse zu verstehen.

Die Ausrichtung der Patche bzw. der Zellverteilung in dorso-ventraler Richtung (= anterior-posterior) ist in beiden Arealen vergleichbar. In M1 weichen die Schichten I, V + VI in medialer Richtung von der Hauptrichtung im Winkel von rund 90° ab. Im prämotorischen Kortex sind es die Schichten I + II, die im Winkel von 90° von der Hauptrichtung nach lateral orientiert sind.

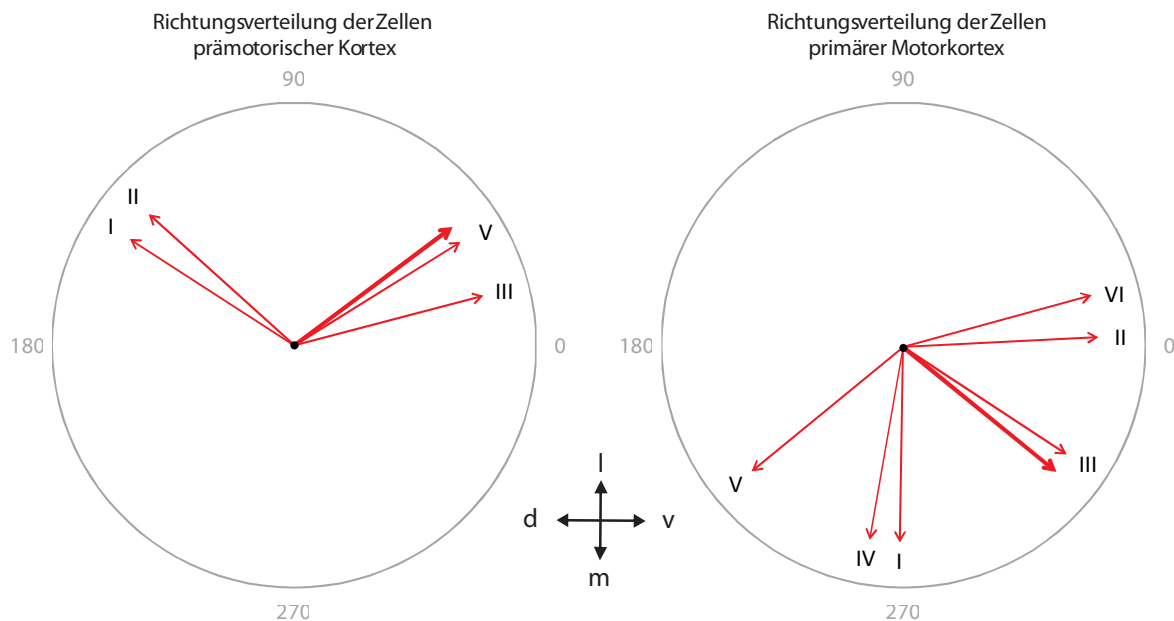


Abb. 82a: Vergleich der Richtungsorientierung in den Geweben und Kortexschichten von prämotorischem Kortex und primärem Motorkortex

Die Richtungsorientierung der Gewebe ist durch den dicken roten Pfeil visualisiert, die der Schichten durch die dünnen Pfeile (unabhängig vom Ausmaß der Richtungsbevorzugung). Zu sehen ist eine grobe dorso-ventrale bzw. anterior-posteriore Orientierung der Zellverteilung im Gewebe. Die Richtungsbevorzugung in den Schichten weicht im primären Motorkortex insbesondere die Schicht V in einem 90° Grad Winkel davon ab.

Die Boutondichten in den Schichten des prämotorischen Kortex zeigen im Gegensatz zum primären Motorkortex keine Zunahme in den oberen Schichten, sondern zeigen eine gleiche Verteilung.

Der Vergleich von Patchdurchmesser und -fläche (s. Abb. 82 a+b) erwies sich zwischen M1 und prämotorischem Kortex als signifikant unterschiedlich (p-Wert: Durchmesser 5.9505 e-168, Fläche $p = 3.7496 \text{ e-169}$), während sich bei den Dendritenfelddurchmessern und -flächen keine signifikanten Unterschiede zwischen primärem Motorkortex und prämotorischem Kortex ergaben (vgl. Abb. 82c+d).

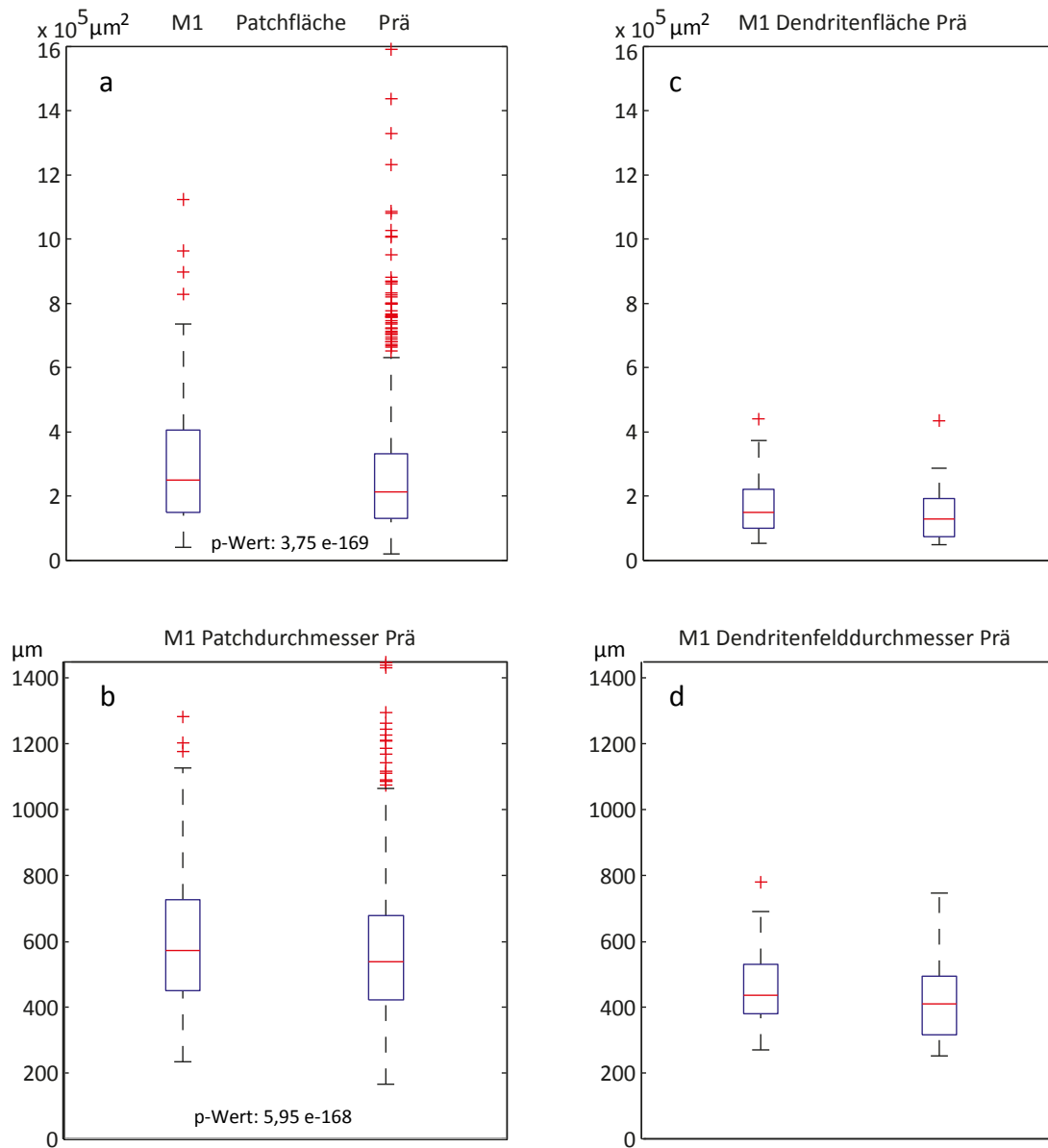


Abb. 82b: Vergleich der Daten von prämotorischem Kortex und primärem Motorkortex

Die Kastengrafiken ermöglichen einen Vergleich von Patch- und Dendritenfelddaten zwischen primärem Motorkortex (M1) und prämotorischem Kortex (Prä). Die Kennzahlen weisen für den primären Motorkortex etwas größere Dimensionen gegenüber dem prämotorischen Areal aus, wobei die Streuung der Extremwerte bei den Patchgrößen im prämotorischen Kortex größer ist.

Wiedergegeben sind die Mediane (rote Linie), die mittleren Quartile (die mittleren 50% der Werte zwischen dem 25sten und 75sten Perzentil, Kasten) und die Streuung der Daten innerhalb des 1,5 fachen des Interquartilsabstandes (Antennen). Außerhalb dieser Bereiche liegende Daten werden als Extremwerte durch ein rotes Kreuz angegeben.

a + b) Vergleich der Durchmesser und Flächen von Patches in M1 und prämotorischem Kortex. Der Unterschied der Mediane ist signifikant.

c + d) Vergleich der Durchmesser und Flächen der Dendritenfelder in M1 und prämotorischem Kortex. Die Mediane sind nicht signifikant unterschiedlich.

3.6. Die Verbindungen zum somatosensorischen Kortex

Die Verbindungen zum somatosensorischen Kortex wurden nicht systematisch bearbeitet, deshalb liegen nur Einzelergebnisse vor. Es wurden ausschließlich senkrecht zur Oberfläche geführte Schnitte untersucht, die den Zentralsulcus mit primären Motorkortex und somatosensorischen Kortex enthielten.

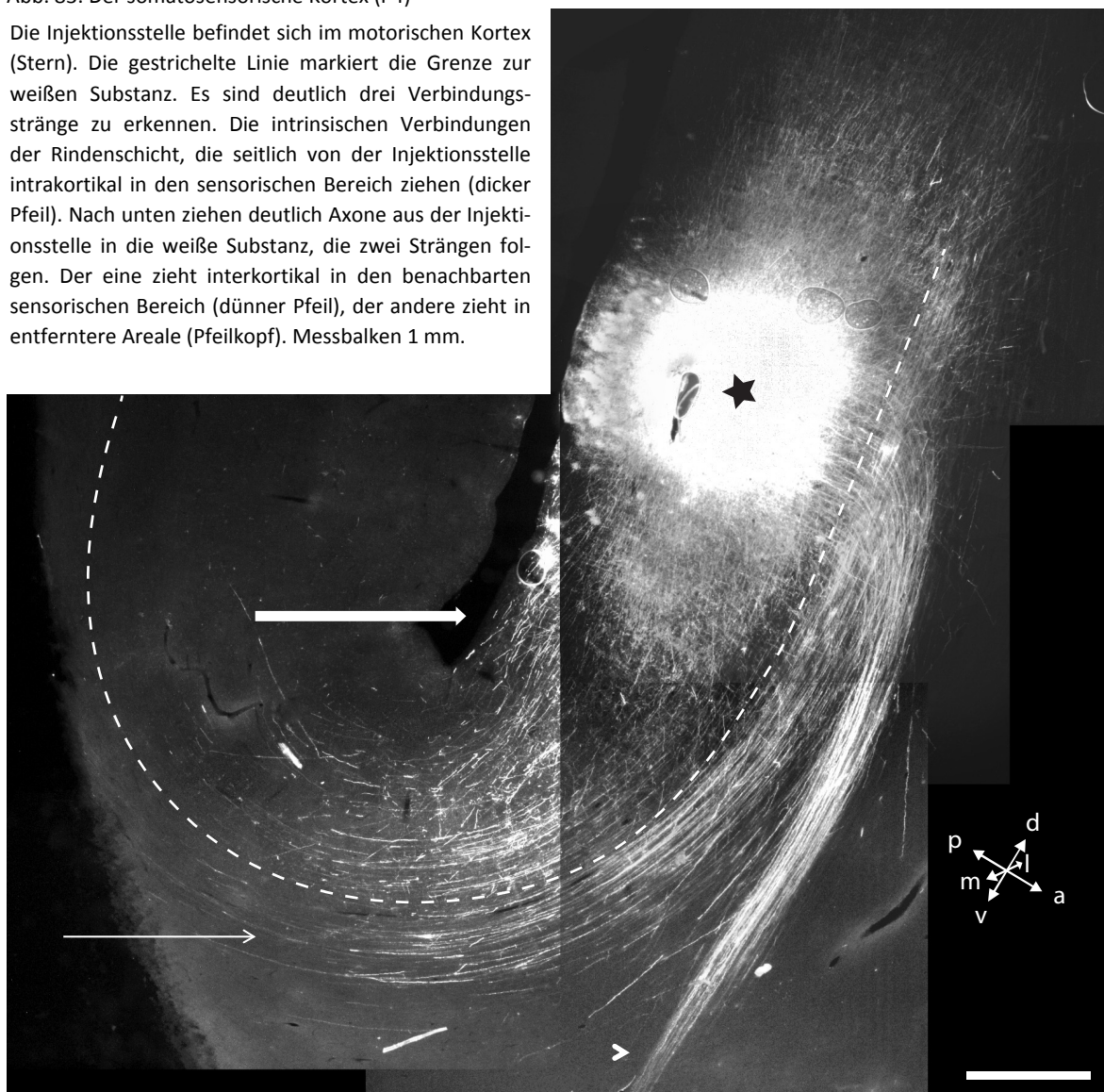
Durch einen im Motorkortex gesetzten Kristall konnten die grundlegenden Verbindungsstrukturen gezeigt werden (s. Abb. 83). Die intrinsischen Verbindungen ziehen vom primären Motorkortex bis in den somatosensorischen Kortex. Die retrograd gefärbte, entfernteste Zelle wurde ca. 9,5 mm von der Injektionsstelle im somatosensorischen Kortex gefunden (s. Abb. 84). Der Übergang von somatosensorischem und motorischem Kortex zeigt kontinuierliche Färbungen ohne erkennbare Grenzen zwischen den Arealen.

Vgl. (Jones and Wise 1977, Jones, Coulter et al. 1978, DeFelipe, Conley et al. 1986b)

Zudem existieren interkortikale Verbindungen vom primären motorischen Kortex zum somatosensorischen Kortex und zu anderen Arealen bzw. zum Rückenmark (Abb. 83, 84).

Abb. 83: Der somatosensorische Kortex (P4)

Die Injektionsstelle befindet sich im motorischen Kortex (Stern). Die gestrichelte Linie markiert die Grenze zur weißen Substanz. Es sind deutlich drei Verbindungsstränge zu erkennen. Die intrinsischen Verbindungen der Rindenschicht, die seitlich von der Injektionsstelle intrakortikal in den sensorischen Bereich ziehen (dicker Pfeil). Nach unten ziehen deutlich Axone aus der Injektionsstelle in die weiße Substanz, die zwei Strängen folgen. Der eine zieht interkortikal in den benachbarten sensorischen Bereich (dünner Pfeil), der andere zieht in entferntere Areale (Pfeilkopf). Messbalken 1 mm.



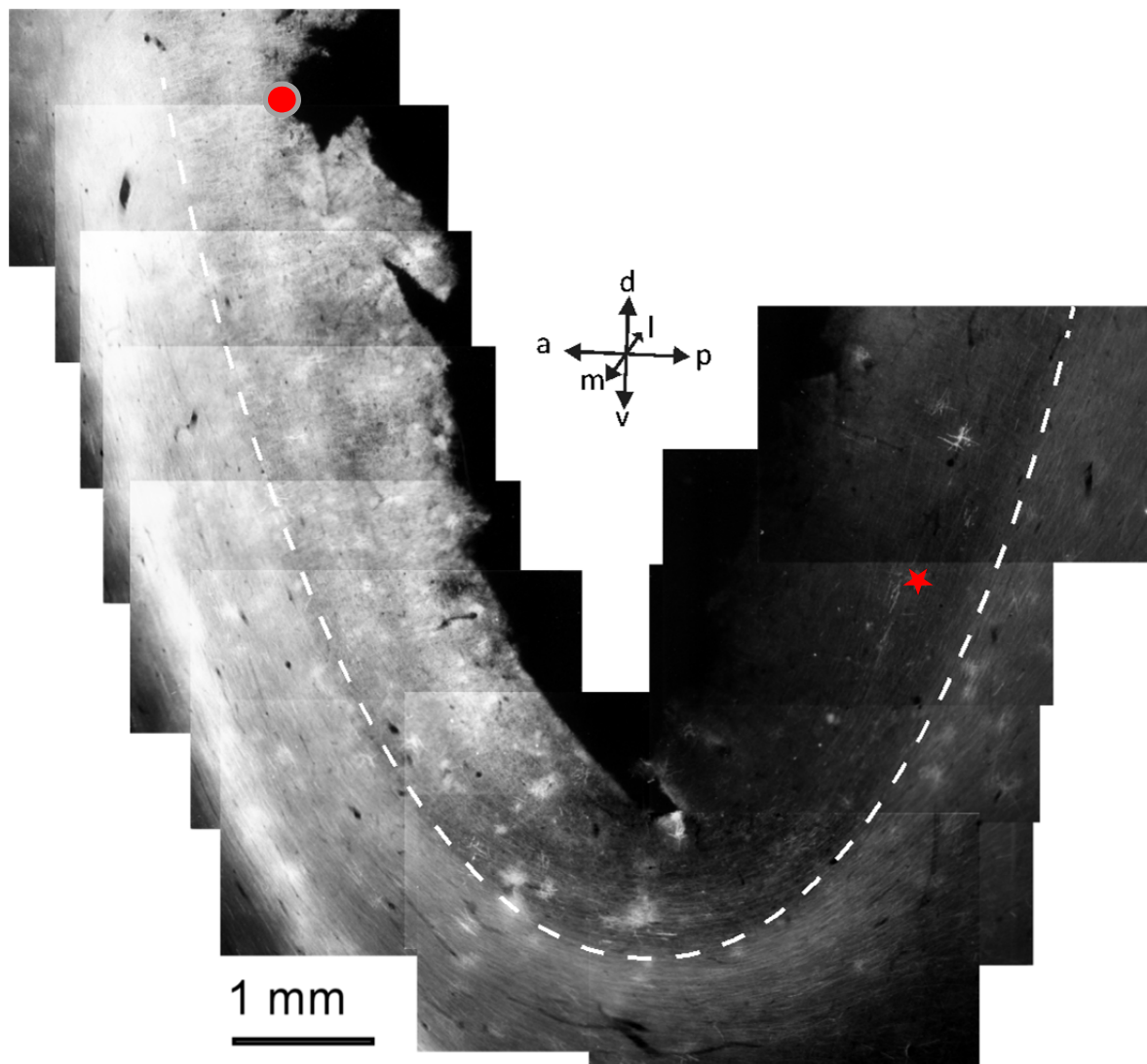


Abb. 84: Injektionsstelle M1-S1 (P1)

Von der Injektionsstelle im Motorkortex (Punkt) ziehen intrakortikale und interkortikale Verbindungen zum somatosensorischen Areal, in dem eine Einzelzelle retrograd gefärbt wurde (Stern). Die gestrichelte Linie markiert die Grenze zur weißen Substanz. Oberhalb verlaufen die intrakortikalen, unterhalb die interkortikalen Verbindungen.

Wurde der Kristall im somatosensorischen Kortex gesetzt, wurden auch hier patchige Strukturen gefärbt. Die Patches im sensorischen Kortex scheinen relativ gut voneinander abgegrenzt und durch dunkle Bereiche voneinander getrennt zu sein (s. Abb. 86). Die entfernteste Zelle lag 10 mm von der Injektionsstelle im somatosensorischen Kortex (s. Abb. 85).

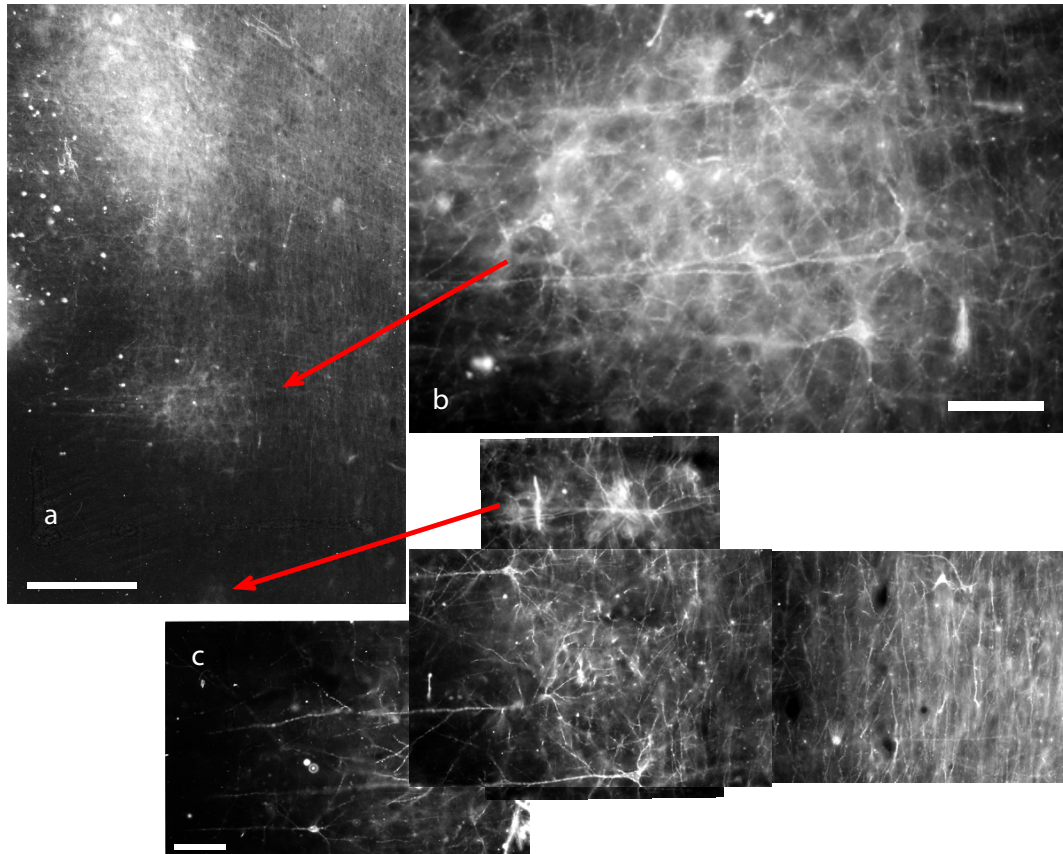


Abb. 85: Patches im somatosensorischen Kortex (P1)

a) Übersichtsbild der Patches, nach links ist die Oberfläche des somatosensorischen Kortex im Zentralsulcus

b) Vergrößerung des zweiten Patches, deutlich sind die Pyramidenzellen zu sehen.

c) Vergrößerung der nur mehr locker im Gewebe liegenden Pyramidenzellen des dritten Patches.

Die roten Pfeile geben die Orte der Patches im Übersichtsbild an.

Messbalken: 500 μ m Übersichtsbild a), 100 μ m Detailbilder b) und c).

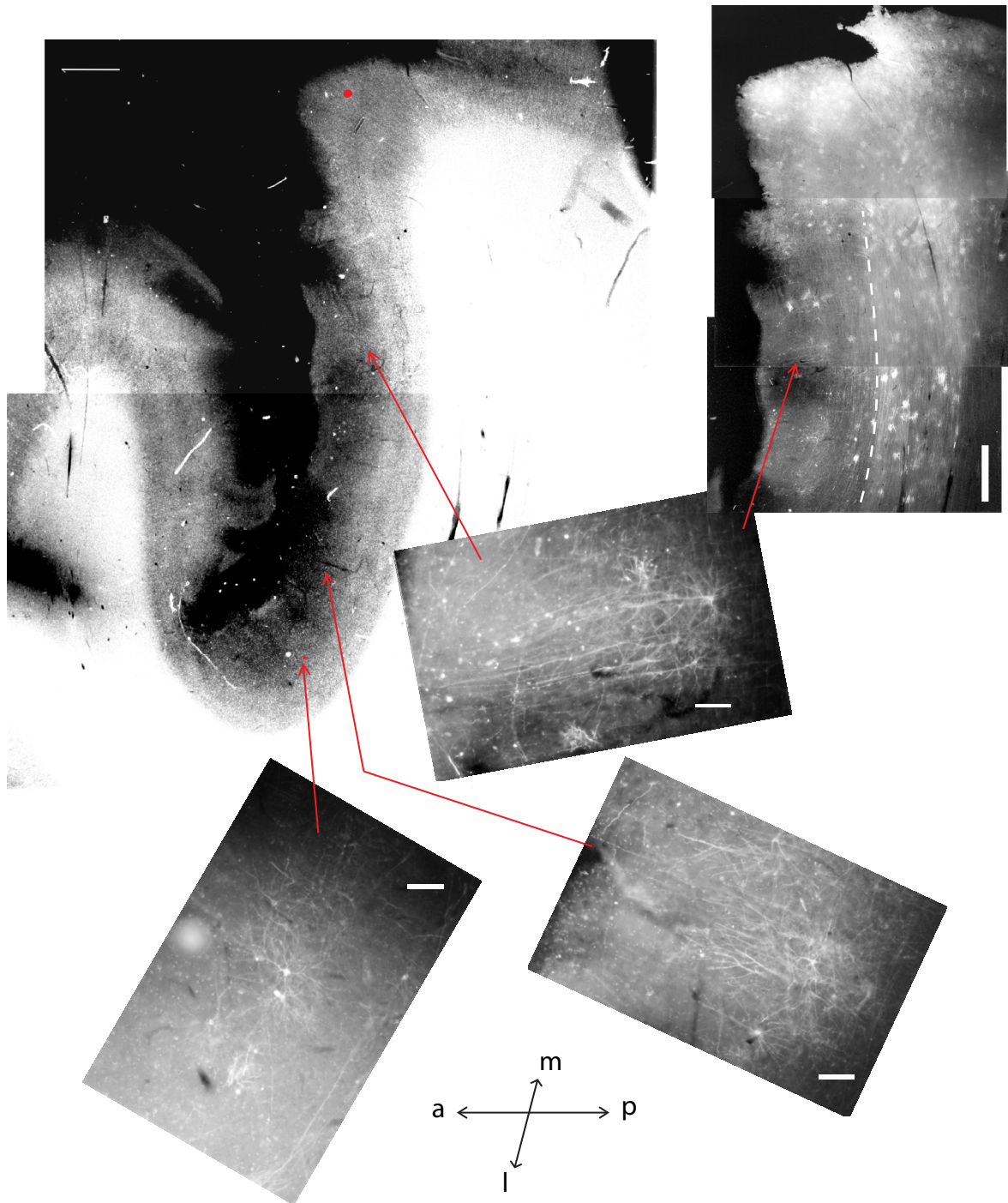


Abb. 86: Somatosensorischer Kortex und entfernteste Zelle (P1)

a) Lichtmikroskopisches Bild des Zentralsulcus. Linke Wand Motorkortex, rechte somatosensorischer Kortex.

b) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme des somatosensorischen Gewebes.

c + d) Patches im somatosensorischen Kortex.

e) Einzelzelle im somatosensorischen Kortex.

Roter Punkt = Injektionsstelle, roter Stern = Ort der Einzelzelle. Die Pfeile verweisen auf die Orte der Detailbilder in der Gesamtansicht.

Messbalken 1 mm in den Überblicksbildern, 100 µm in den Detailbildern. Bilder lagegerecht.

4. Diskussion

4.1. Übersicht: Methodologische Überlegungen und Zusammenfassung

Der Nachweis des intrinsischen Netzwerkes durch die Dil-Färbung hat sich als zuverlässig erwiesen. Indizien dafür sind:

Innerhalb der durchgängig gefärbten Injektionsstelle haben alle Zellstrukturen Kontakt mit dem Farbstoff und sind im Mikroskop durch die Überstrahlung nicht zu trennen. Außerhalb sind die einzelnen Strukturen aber klar voneinander zu unterscheiden. Wenn hier eine transzelluläre Diffusion stattgefunden hätte, müsste man eine durchgängige Färbung erwarten, so wie sie bei Lebendfärbungen auftritt, weil in diesem Fall der Farbstoff aktiv weitertransportiert wird. Die Klarheit der Strukturen lässt auf die Wirksamkeit der extrem geringen Löslichkeit von Dil in Wasser schließen und es damit unwahrscheinlich sein, dass die Ergebnisse durch Diffusion verfälscht sind. Die vereinzelt Gliazellfärbungen widersprechen dieser Einschätzung nicht. Sie sind klar erkennbar und lassen sich auf den unmittelbaren Kontakt der Zellmembranen von Glia und Neuron zurückführen, so wie es bei manchen Myelinscheiden ebenfalls der Fall ist.

Auch die Tatsache, dass fast ausschließlich Pyramidenzellen gefärbt wurden, spricht für das Gelingen der Dil-Färbung, denn sonst müssten sehr viel häufiger z.B. inhibitorische Interneurone⁶⁰ auch in vom Injektionspunkt entfernten Bereichen gefärbt worden sein. Deren axonale Ausläufer erschließen jedoch einen nur begrenzten horizontalen Bereich und können deshalb keinen Kontakt zum Kristall haben. Ihre Färbung hätte eine Weitergabe des Farbstoffs von Zelle zu Zelle angezeigt (s. und vgl. (Lübke and Albus 1992, Galuske and Singer 1996).

Weitere Fehlerquellen wurden im Kapitel Material und Methoden (2.3.7.) vorgetragen. Sie liegen in einer Größenordnung, die das Gesamtergebnis nicht verändern. Die registrierte Verteilung der Zellen mit ihren Dendriten und Axonen dürfte der Lage im Gewebe entsprechen, qualitativ dürfte dies auch auf die Zuordnung zu den Schichten zutreffen. Die Messungen der Abstände, der Boutondichte, der Dendritenfeld- und Patchdurchmesser werden daher als realistisch angesehen.

Die quantitative Zuordnung der Zellen und Axone (bzw. Boutons) zu den Kortexschichten ist fehlerbehaftet, da der Kortex rechnerisch eingeebnet, die genaue Kortexdicke nur indirekt gemessen und der Wert den tatsächlichen Verhältnissen unterstellt wurde.

Bei der Auswahl der Dendritenfelder unter dem Gesichtspunkt der „Eindeutigkeit“ und „Intaktheit“ der Struktur kann es zu einer Verschiebung innerhalb der Gesamtpopulation kommen, die einen abweichenden arithmetischen Mittelwert der Dendritenfeldgröße ergeben könnte. Auch die Auswahl der Axone für die Boutonzählungen könnte ähnliche Abweichungen bewirkt haben.

⁶⁰ Vielgestaltige Zellgruppe von Neuronen (z.B. Double Bouquet-, Chandelier-, Bipolar- und Multipolar-Zellen), die innerhalb des Kortex wirken und nicht in die weiße Substanz ziehen. Insbesondere die inhibitorischen Zellen sind im Nahbereich von 1-2 mm aktiv. Ausnahmen sind Korbzellen, die einen horizontalen Einflussbereich von bis zu 3 mm haben können, aber relativ selten sind (vgl. Hanser und Scholtyssek 2000).

Alle interpretierenden Aussagen sind daher unter diesem Vorbehalt zu verstehen, auch wenn die Größenordnung des Fehlers die grundlegenden Aussagen nicht verfälscht.

Die Untersuchungsergebnisse bestätigen die Existenz eines Netzwerkes langreichweitiger intrinsischer Verbindungen im primären Motorkortex im Menschen. Dieses Netzwerk verbindet wechselseitig Neuronen und Neuronengruppen vor allem in den supragranulären Schichten sowie in Schicht V und VI. Diese Befunde ergänzen entsprechende Untersuchungen an Tieren und stützen damit das Modell eines untergliederten Aufbaus des motorischen Kortex.

4.2. Einordnung in die bisherigen Erkenntnisse

4.2.1. Das Netzwerk

Erscheinungsbild

Das Erscheinungsbild des Netzwerkes ist durch patchige Gewebefärbungen mit Neuronen und ihren Dendriten und einem diffus erscheinenden Axonengeflecht geprägt. Es ähnelt der bei Tieren, vor allem Katzen und Affen (Jones, Coulter et al. 1978), aber auch Nagern (Weiss and Keller 1994) gefundenen Kortexorganisation. Dieses Netzwerk liegt vor allem in den supragranulären Schichten vor, in denen Neurone einzeln und gruppiert über einen weiten, meist asymmetrischen Bereich verteilt sind. In diesen Bereich sind die Axone und ihre patchigen Terminalfelder eingewoben. Insofern liegt eine sowohl auf Zellebene (Terminalfelder) als auch auf Interzelebene vorhandene patchige Struktur vor. Die Eigenheiten dieses Netzwerkes der intrinsischen Verbindungen sollen im Folgenden anhand der eigenen und bereits vorliegender Untersuchungsergebnisse genauer dargestellt werden.

Zellverteilung

Die vorliegende Untersuchung der Reichweiten des intrinsischen Netzwerkes im menschlichen Motorkortex wies retrograd gefärbte Zellen bis zu einer Entfernung von 12 mm nach und konnte damit die weite Verteilung der Neuronenkontakte innerhalb lokaler Bereiche bestätigen. Die in dieser Arbeit referierten Daten passen gut zu den bisherigen Befunden in Säugetieren, die intrinsische Verbindungen bis zu 8 mm Entfernung von den Injektionsstellen nachwiesen (s. Tab. 12). Eine ähnliche Größenordnung der Daten wurde auch vom visuellen Kortex berichtet (Luhmann, Singer et al. 1990, Galuske 1994, Galuske and Singer 1996, Schmidt and Löwel 1997b).

Interessant sind in diesem Zusammenhang physiologische Daten, die den Einflussbereich von Neuronen auf das lokale Umfeld wiedergeben (s. Tab. 13). Sie wurden durch intrakortikale Messungen an einzelnen oder mehreren Elektroden erhoben. Lokale Feldpotentiale oder die Entladungsmuster von Neuronen werden auf Aktivierung, Hemmung, Oszillation und Synchronisation analysiert. Zuhilfe genommen werden dabei auch transmitter- oder rezeptorblockierende Antagonisten, die z.B. Hemmungen aufheben. Dadurch kann indirekt auf das intrinsische Netzwerk geschlossen werden. Hier zeigt sich deutlich, dass der messbare Einfluss auf das lokale Umfeld von Neuronen begrenzt erscheint. Die großen Reichweiten von 10 bzw. 14 mm (letzte Zeile in Tab. 13) können nicht als direkte Wirkung des intrinsischen Netzwerkes interpretiert werden, wenn auch sein Einfluss darauf unbestritten ist. Die Daten wurden in den Tab. 12 und Tab. 13 zusammengestellt und ergänzt in Anlehnung an Schieber und Voges (Schieber 2001, Voges, Schuz et al. 2010b). Sie geben die wichtigsten und vor allem quantifizierten Daten wieder. Die physiologischen Daten wurden nicht immer mit den anatomischen abgeglichen, deshalb sind insbesondere die großen Einflussbereiche von bis zu 14 mm bei Oszillationsuntersuchungen (s. letzte Zeile Tab. 13) nicht direkt in Reichweiten von Axonkollateralen zu übersetzen.

Tab. 12: Untersuchung intrinsischer Verbindungen im Motorkortex Legende nächste Seite unten	Entfernung in mm	
	dichtes Netz im Bereich von	peripher / maximal
(Gatter, Sloper et al. 1978) Degenerationsstudien, Affe	0,2 – 0,3	2 - 3
(Landry P, Labelle A et al. 1980) intrazelluläre HRP-Injektion, Katze, Schicht V und VI	0,5 – 0,8	1,5 – 2 / 2 - 3
(DeFelipe, Conley et al. 1986b) extrazellulär HRP* in somatosensorischen Kortex, retrograd gefärbte Zellen (Schicht III + V) in Area 4, Affe		6 und mehr
(Ghosh and Porter 1988a) ICMS* u. HRP*-intrazellulär, Affe		3
(Keller, 1993a-c) Neurobiotin, intrazellulär, Schicht II und III, Katze		2-3
(Huntley, Jones, 1991) ICMS* und HRP*-Injektion im Vorderarm- und Gesichtsbereich, Affe ähnlich: (Tokuno and Tanji 1993) FB/DY*-Färbungen		7 - 8
(Capaday, Devanne, 1998) intrinsische Verbindungsstrukturen zwischen antagonistischen Muskelgruppen, ICMS*+HRP*+Biocytin, Katze		3
(Capaday, Ethier 2009) ICMS*, EMG*, Biocytin, EM*, intrinsische Verbindungen, Bouton-Verteilung, Katze		7
(Lund, Yoshioka et al. 1993) Biocytin-Injektion, Affe		~4
Vorliegende Untersuchung (v.W.), 2012, Dil*-Färbung, Mensch	<6	12

Tab. 13: Physiologische Studien zum Motorkortex	Entfernung in mm	
(Asanuma and Rosen 1972a) ICMS*, physiologischer Interaktionsradius der Neurone, Katze	0,5 - 1	
(Matsumura, Chen et al. 1996) STA* von Neuroneninteraktionen, Affe	1-2 für ASIP*	4,5 für ASEP*
(Baker, Olivier et al. 1998) ICMS und EMG-Messungen Neuronenpaare, Affe	1 bzw. 1,5 - 2	
(Kwan, Murphy et al. 1987, Smith and Fetz 1989, Riehle, Grün et al. 1997a, Grammont and Riehle 1999) Messungen synchroner Aktionspotentiale, Affe Ähnl. (Ghosh, Putrino et al. 2009) Dauerelektroden, Katze	<2 <4	
(Maynard, Hatsopoulos et al. 1999) Korrelation der („trial-to-trial“-) Entladungsvariation von Neuronenpaaren, Affe	2	
(Schneider, Capaday 2002) Mechanismen der internen Muskelkoordination, Aufhebung der Hemmung, Katze	Ø 2,3 , <4,85	
(Capaday, van Vreeswijk et al. 2011) BIC*-Aktivierung des intrinsischen Netzwerks, Messung mit Multielektrodenfeld, Katze	aktivierte Fläche 7,22 mm ²	
LFP*-Oszillations-Messungen synchronisierter Neurone (Murthy and Fetz 1992, Murthy and Fetz 1996a, Donoghue, Sanes et al. 1998) Affe; Bestätigung durch EMG*-Messungen (Baker, Olivier et al. 1997, Hari and Salenius 1999) ergänzt durch (Murthy and Fetz 1996b, Baker, Kilner et al. 1999) Affe	14 Andere Ursachen für die Oszillationen wahrscheinlich, intrinsisches Netzwerk aber beteiligt 10	

Der Vergleich von physiologischen funktionellen mit anatomischen strukturellen Daten deckt einen Widerspruch zwischen den langreichweitigen Axonkollateralen und dem Wirkungsbereich eines Neurons auf. Letzterer liegt im Bereich von 1-2 mm (Baker, Olivier et al. 1998)⁶¹ bzw. 2-3 mm (Capaday, van Vreeswijk et al. 2011), die anatomischen Strukturen reichen jedoch 2-5 mal so weit (s. Tab. 12 und 13). Dieser Widerspruch wurde in den Zusammenhang mit intrakortikaler Hemmung gestellt (DeFelipe and Jones 1985). Inhibition ist vornehmlich vertikal orientiert. Sie wirkt im Nahbereich, horizontal über Korbzellen aber auch bis zu 3 mm (DeFelipe, Hendry et al. 1986a, Schieber 2001, Douglas and Martin 2009, Meyer, Daniel Schwarz et al. 2011), und begrenzt z.B. die horizontale Erregungsausbreitung in den Neuronen (Capaday, Ethier et al. 2009). Die Untersuchungen von Schneider und Capaday (Schneider, Devanne et al. 2002) zum neuronalen Mechanismus im Motorkortex ergaben eine interne Verbindung zweier Stellen, die eine Muskelsynergie (s.o. S.25) kreierten. Sie konnten aufzeigen, dass die Aufhebung der Hemmung zwischen ihnen der funktionelle Mechanismus ist und nicht die direkte Erregung. Die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen könnte eine wichtige Funktion auch darin haben, exzitatorisch die Inhibition in entfernten Bereichen zu stimulieren (Schieber nimmt Bezug auf (Kujirai, Caramia et al. 1993) und (Jacobs and Donoghue 1991)). Hier ist vor allem an die weitreichenden Verbindungen in Schicht III zu denken. Jacobs und Donoghue (1991) haben intrakortikale Hemmung auch für die Reorganisation der M1-Karten verantwortlich gemacht (s.a. (Porter, Matin et al. 2000)).

Die Tatsache, dass vor allem Pyramidenzellen, die exzitatorisch sind, gefärbt werden, steht in guter Übereinstimmung mit Untersuchungen an Nagern, Katzen und Affen und wird verständlich auf dem Hintergrund, dass bisher in allen Arealen Ziele des intrinsischen Netzwerkes andere Pyramidenzellen zu einem Prozentsatz von 90 und mehr sind (Kisvarday, Martin et al. 1986, McGuire, Gilbert et al. 1991, Aroniadou and Keller 1993, Keller and Asanuma 1993b, Weiss and Keller 1994, Melchitzky, Gonzalez-Burgos et al. 2001). Andererseits werden aufgrund der hier angewendeten Färbetechnik inhibitorische Zellen selten gefärbt sichtbar, weil ihre horizontalen Reichweiten im unmittelbaren Umfeld von 1000 – 2000 (max. 3000) µm liegen. Sie befinden sich damit in dem Bereich, in dem alle Strukturen gefärbt und durch Überstrahlung mehr oder minder unsichtbar werden. Weiter in der Peripherie liegende inhibitorische Zellen können zwar durch langreichweitige Axonkollateralen exzitatorischer Zellen kontaktiert werden, werden dann jedoch in der vorliegenden Untersuchung nicht gefärbt und bleiben daher ebenfalls unsichtbar.

* Legende zu Tab. 12+13 :	EM = Elektronenmikroskop
ASEP = average synchronous excitation potential	EMG = Elektromyograph
ASIP = averagesynchronous inhibitory potential	FB = Fast Blue (Farbstoff)
BIC = Bicucullin-Methiodid	HRP = horse-radish-peroxidase(Farbstoff)
Biocytin = Farbstoff	ICMS = intracorticale microstimulation
Dil = Dioktadezyltetramethylindokarbozyanin Perchlorat	LFP = lokales Feldpotential
DY = diamidino-yellow (Farbstoff)	STA = spike-triggered averaging (of intracellular potentials)

⁶¹ A.a.O. S. 397f

Schichtzuordnung

Das Histogramm der Tiefenverteilung der Zellen (s. Abb. 40) weist eine deutliche Konzentration der Zellen bis etwa 1700 μm aus, was den Schichten II und III entspricht. Die in den Bildern (vgl. Abb. 39) deutlich werdende Zäsur zwischen den Schichten II/III und V/VI kann dem Histogramm nicht entnommen werden. Der Grund dafür liegt wahrscheinlich in der Variation der Kortexdicke innerhalb des Gewebes, die nicht direkt gemessen werden konnte. Deshalb musste der statistischen Auswertung eine einheitliche Kortexdicke zugrunde gelegt werden (s. Kapitel 2.3.8). Da die Schicht IV sehr dünn ist (140 μm), macht sich an dieser Stelle die Größe des möglichen Fehlers in der gleichen Höhe (bis zu 140 μm) bemerkbar.

Anhand der senkrecht zur Kortexoberfläche geführten Schnittserien und der Tiefenwerte der Horizontalschnitte konnte die Zuordnung der Zellen zu den Schichten II und III sowie V vorgenommen werden. Dies korrespondiert mit den Befunden in Affen (Gatter, Sloper et al. 1978, Lund, Yoshioka et al. 1993).

Die Frage der quantitativen Verteilung der Zellen auf die Schichten lässt sich nur für die Schichten II und III in einer direkten Weise den Daten entnehmen. In welchem Umfang sich die geringere Anzahl von Zellen in den Schichten V und VI des intrinsischen Netzwerkes davon abhebt, ist nur zu vermuten. Der Kristall reicht vermutlich nur maximal an die Grenze zur Schicht IV heran (s. Kapitel 2.3.6). Zellen der Schicht V und VI werden daher vor allem direkt über die Apikaldendriten gefärbt und sind in der Fluoreszenz der Injektionsstelle nicht zu detektieren. Die horizontalen Kontakte zu weiter außerhalb liegenden Zellen innerhalb der Schicht V und VI erreichen aber vermutlich nicht den Dil-Kristall, weil er nicht so tief reicht. Die Tatsache, dass überhaupt Zellen der Schichten V und VI retrograd gefärbt wurden, kann mit einiger Berechtigung den intrinsischen Verbindungen zu den Schichten II+III zugeschrieben werden (Yamashita and Arikuni 2001, Hooks, Hires et al. 2011). Dafür spricht auch die Verschiebung der Zellverteilungskurve der Schicht V gegenüber der Kurve der Schicht III (s. Abb. 44b). Damit kann über die Dichte der horizontalen Verbindungen in Schicht V und VI nur schwer eine quantifizierende Aussage getroffen werden.

(Die nicht ausreichende Tiefe des Kristalls könnte auch der Grund sein, warum im prämotorischen Kortex nahezu keine Zellen in Schicht V gefärbt wurden. Die alternative Deutung wäre ein schwach ausgeprägtes Netzwerk in den infragranulären Schichten im prämotorischen Kortex).

Die relativ hohe Anzahl an Zellen in der eigentlich zellarmen Schicht I (auch im prämotorischen Kortex) könnte mit folgenden Gegebenheiten zusammen hängen.

Schicht I ist am anfälligsten für die in Kapitel 2.3.7. genannte Fehlerquelle in der Tiefeneinordnung der Zellen. Werden randständige Zellen, die eigentlich noch vom darüber liegenden Gewebe überdeckt sind, von mir als nicht überdeckt ausgewiesen, rutschen sie u.U. in Schicht I. Bei einer Dicke der Schicht I von 450 μm kann sich ein möglicher Fehler von 140 μm Höhenunterschied in der Schichtzuordnung deutlich auswirken.

Schicht I ist durch meine Messungen auf 450 μm festgelegt worden. Die Literaturwerte liegen meist tiefer. Da die Schichtdickenmessung jedoch an einer anderen Gewebepartie

vorgenommen wurde als die Tiefenmessung der Zellen, könnten auch dadurch fehlerhafte Schichtzuordnungen vorkommen.

Mögliche Schäden an der Kortexoberfläche treffen vor allem Schicht I. Dadurch würden Zellen in Schicht II fälschlicherweise der Schicht I zugeschrieben, wenn die Kortexoberfläche durch Abtragung tiefer liegt. Auch wenn ich diese Fehlerquelle als gering einschätze, könnte sie zusammen mit den anderen Fehlerquellen eine nennenswerte Veränderung der Zellanzahl in Schicht I bewirkt haben.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass das intrinsische Netzwerk im primären Motorkortex im Nahbereich von bis zu 5 - 6 mm ein dichtes Geflecht darstellt, das einzelne Verbindungsstränge bis zu 12 mm ausbildet und damit über den unmittelbaren lokalen Einflussbereich hinaus wechselseitige Kontakte ausbildet. Diese sind auf jeden Fall in den Schichten II und III auch quantitativ belegbar, während die Verbindungsstrukturen in den Schichten V und VI nur qualitativ bestätigt werden können. (vgl. Kap. 4.8. über die Small-world-Netzwerke)

Die enorme Dicke der Schichten lässt sich mit dem Koordinierungsbedarf des primären Motorkortex in Verbindung bringen. Hammond (2002) sammelt Indizien für die Korrelation von höherer Verbindungsdichte mit Händigkeit bzw. Aktivität. Amunts et al. untersuchten an humanen Gehirnen die Zelldichte, die in der linken Hemisphäre geringer ist und mehr Raum für das Neuropil stellt. Sie deuteten diesen Befund im Sinne einer höheren Verbindungsdichte in den weniger zelldichten Arealen. Diese höhere Verbindungsdichte konnte bei Kindern in den supragranulären Schichten nicht bestätigt werden, was auf eine erfahrungsabhängige Entwicklung hindeuten könnte (Amunts, Schmidt-Passos et al. 1997b). Dann würde die angenommene höhere Verbindungsdichte in adulten Gehirnen auf die erfahrungsabhängige Händigkeitsentwicklung zurückzuführen sein (s.a. Kap. 4.3.1.).

Asymmetrische Verteilung

Die vorgelegten Daten zeigen eine deutliche asymmetrische Verteilung der Zellen und Patches um die Injektionsstelle⁶². In einem Gewebe schien eine mehr oder minder gleichmäßige Verteilung vorzuliegen, die jedoch quantitativ nicht gesichert werden konnte. Ein gleichmäßiges Netzwerk erscheint allerdings auch in Hinblick auf die Funktionszusammenhänge als äußerst unwahrscheinlich (s.u.).

Hinsichtlich der asymmetrischen Verteilung der Zellen des Netzwerkes gibt es nur allgemeine Vergleichsdaten. Alle weisen jedoch eine unebenmäßige Verteilung auf. Es sind am ehesten ellipsoide Anordnungen, die sich asymmetrisch über die jeweils untersuchte Fläche verteilen. Diese zeigen die Bilder der Färbemuster von Terminationsgebieten bei Lund besonders anschaulich (s. Abb. 87). Die Zellen nehmen das ins Gewebe injizierte Biotin auf und füllen sich bis in die feinsten Verästelungen mit dem Farbstoff, so dass die Terminationsgebiete deutlich hervortreten (Lund, Yoshioka et al. 1993). Die Ausrichtung in an-

⁶² Zum Wortverständnis sei angemerkt, dass es hier nicht um asymmetrische Verteilungen von Arealgrößen, Kortexdicken, Zellen u.a.m. zwischen den Hemisphären geht, sondern um die Verteilung der gefärbten Strukturen innerhalb des Areals.

terior-posteriorer Richtung stimmt mit der hier gefunden dorso-ventralen Richtungsbevorzugung im Zentralsulcus überein, die im eingeebneten Kortex einer anterior-posterioren Richtung entspricht. Über die schichtbezogenen Richtungsbevorzugen liegen keine Vergleichsdaten vor. Sie könnten eine interne Arbeitsteilung in vertikalen Neuronengruppen signalisieren.

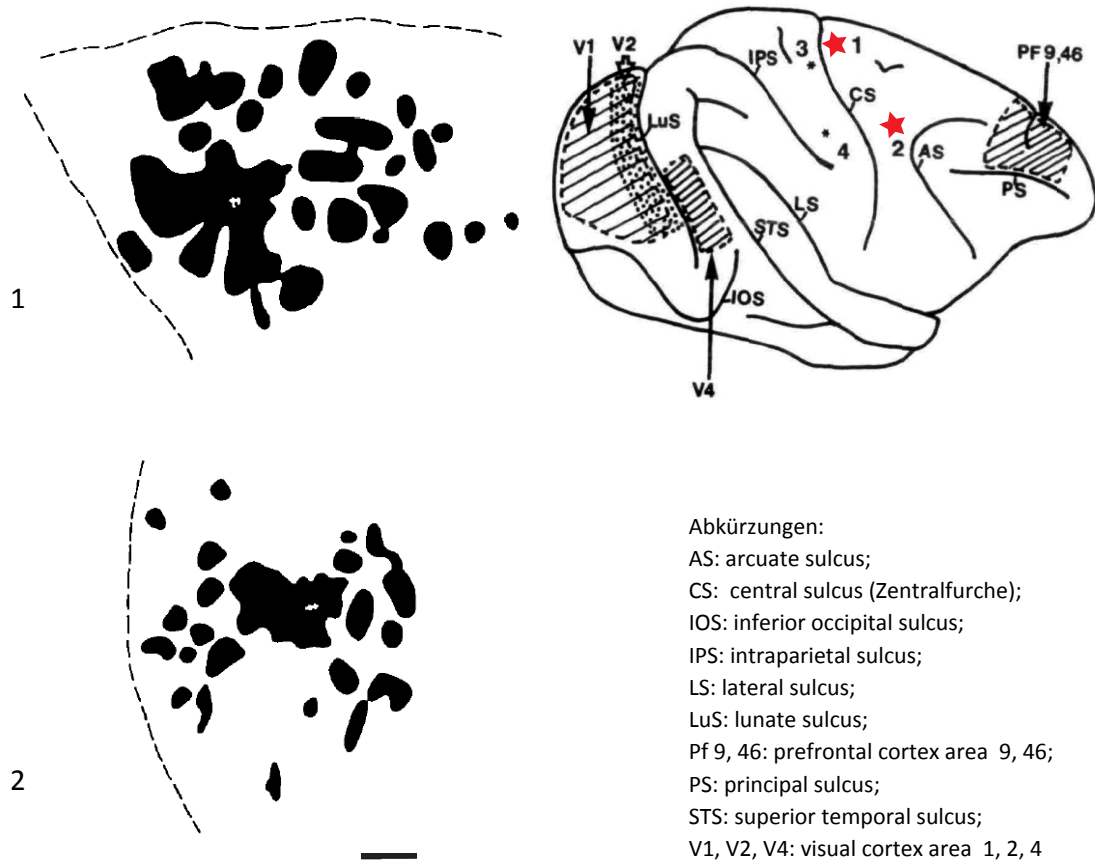


Abb. 87: Karten der Terminationsfärbungen

Die Karten der Terminationsfärbungen entstanden durch Druckinjektion (1) und einer iontophoretischen Injektion (2) von Biotin in den Motorkortex (Area 4) von Makaken. Die Injektionsstellen sind in der rechten Figur mit roten Sternen auf dem präzentralen Gyrus gekennzeichnet.

Die Karten(1+2) wurden von Schnitten rekonstruiert, die parallel zur Oberfläche geführt wurden. Die gestrichelte Linie links neben den Karten markieren den Zentralsulcus, die gestrichelte obere Linie in (1) die Mittellinie. Lateral ist abwärts und anterior geht nach rechts. Messbalken 1 mm. Verändert aus: (Lund, Yoshioka et al. 1993) S. 149 +152

Auch die funktionellen Kolumnen im visuellen Kortex sowie deren intrinsische Verbindungen zeigten nie runde oder symmetrische Formen (Grinvald, Frostig et al. 1991, Bonhoeffer and Grinvald 1993).

Es ist wahrscheinlich, dass diese Asymmetrien den Funktionen unterlegt sind. Huntley und Jones (1991) konnten in einer funktionellen und anatomischen Untersuchung von Affen nachweisen, dass die intrinsischen Verbindungen die anatomischen Körperstrukturen (Vorderarm) widerspiegeln, die sich deutlich vom Gesichtsbereich unterscheiden ließen. Capaday et al. (1998) schlossen aus ihren ebenfalls funktionellen und anatomischen Untersuchungen an Katzen, dass es intrakortikale Schaltkreise zwischen Bereichen des Motorkortex gibt, die antagonistische Muskeln innervieren.

Untersuchungen der Entwicklung des intrinsischen Netzwerkes im visuellen (Galuske 1994, Galuske and Singer 1996, Schmidt and Löwel 1997b) und im motorischen Kortex

(Amunts, Schmidt-Passos et al. 1997b) lassen vermuten, dass auch im motorischen Kortex die intrinsischen Verbindungen bereits angeboren angelegt sind und erfahrungsabhängig strukturiert werden (s.o.). Im Vergleich kindlicher und erwachsener Kortexausprägungen sind im Motorkortex diese altersabhängigen Veränderungen in Hinblick auf die Kortexschichtdicken und die Zelldichten signifikant (Amunts, Istomin et al. 1995, Amunts, Schmidt-Passos et al. 1997b). Zusammen mit fMRI- und TMS-Studien (Hammond 2002) liegt die Vermutung nahe, dass diesen Funktionszusammenhängen die asymmetrische Verteilung der Patches und Zellen unterliegt (vgl. Malach 1993).

4.2.2. Die Patches

Die auch beim Menschen gefundene „patchige“ Struktur des Netzwerkes wird als typisch für den Neokortex angesehen und ist vielfach über anatomische und funktionelle Studien beschrieben worden. Diese modulare Struktur wird als universelles Bauprinzip des Gehirns, zumindest des Neokortex, angesehen.

Es spricht alles dafür, dass diese Patches (s. Abb. 37 und 38) über die antero- und retrograd gefärbten Axone wechselseitig in Verbindung stehen. Die Größe dieser Patches ist unterschiedlich (s.Tab. 14), gleichwohl schwankt sie lediglich zwischen 300 und 700 µm.

Diese patchige Struktur hat vermutlich ihre Gründe in der ökonomischen Optimierung von engmaschigen Netzwerken, in denen die Verbindungen nennenswerten, aber eben doch nur begrenzten Raum einnehmen dürfen (s.u.).

Die Größe der Patches ist manchmal von der Untersuchungsmethode abhängig (Lund, Yoshioka 1993). Auch ist zu beachten, dass in der Regel patchige Terminationsgebiete als Patch bezeichnet werden, während in dieser Arbeit Patch etwas allgemeiner gefasst ist und Neuronengruppierung im Neuropil meint. Wie groß der Unterschied wirklich ist, ist ungeklärt. Diesen Sachverhalt gilt es jedoch auch bei dem nächsten Aspekt im Blick zu behalten.

Tab. 14: Patches			
Untersuchung von	Kleinster/größt. Durchmesser in μm	Fläche gefärbter Strukturen (Patches) in mm^2	(Z) Zellzahl (E) Entfernung von Injektionsst. (IPD) Abstand der Patches untereinander (center-to-center)
(Lund, Yoshioka 1993) Affe, Biocytin-Injektion m. unterschiedlichem Druck, (B)= kl. Injektionsstelle (mehr lateral) (A) =gr. Injektionsstelle(mehr medial) (s. Abb. 87)	Anterior zur Injektionsstelle 470-670 (A) 370-630 (B) Posterior zur Inj. 320-490 (B)	Gesamte gefärbte Fläche: $7,4 \times 5,2 = 38,48$ (A) $5,9 \times 5,2 = 30,68$ (B)	(IPD) in μm 950 anterior (A) 860 anterior (B) 900 posterior (B) anterio-posteriore Ausrichtung der Patches
(DeFelipe J et al 1986b) extrazellulär HRP in somatosensorischen Kortex, retrograd gefärbte Zellen (Schicht III + V) in Areal 4, Affe	Focused, columnlike concentrations of terminal boutons		IPD >800 μm
Vorliegende Untersuchung (v.W.), 2013, Dil-Färbung, Mensch, Areal 4	528 / 703	0,306 / patch	IPD 1385 μm \emptyset
Funktionelle Einflussphäre			
(Georgopoulos, Merchant et al. 2007a) Affe, MUA+SUA*, richtungssensible Neurone M1 (41% der analysierten Neurone)	Minikolumnen ~30 μm (geclustert zu 2-3) Wiederholung in Abständen v. ~240 μm		
(Stark, Drori et al. 2009) SUA +MUA* Affe, Kitzel- und Weg-Zeichnen-Aufgabe, untersuchte Parameter: Position, Geschwindigkeit, Beschleunigung	Lokale, variierende Aggregationen von Neuronen ähnlicher Eigenschaften innerhalb von 100-200 μm		
(Capaday, van Vreeswijk 2011) BIC-Aktivierung des intrinsischen Netzwerks, Messung mit Multielektrodenfeld, Katze			durch einen Kortexpunkt von 0,4 mm Radius aktivierte Fläche 7,22 mm^2
Prämotorischer Kortex			
Vorliegende Untersuchung (v.W.), 2011, Dil-Färbung, Mensch, Areal 6	465 / 683	0,269 / patch	
Zum Vergleich: Dendritenbäume			
Basaldendritenfeld von Schicht-V-Pyramidenzellen	420		
(Meyer 1987) Golgi, Mensch, Areal 4	100 - 300		

Legende:

BIC = Bicucullin-Methiodid

Dil = Dioktadezyltetramethylindokarbozyanin Perchlorat

HRP = Meerettich-Peroxidase

MUA = multi-unit-activity

SUA = single-unit activity

Patches und Dendritenfelder

Für viele Kortexareale wurde eine Korrelation von Basaldendritenfeldern mit der Größe der intrinsischen Patches aufgezeigt (Rockland, Lund et al. 1982, Lund, Yoshioka et al. 1993, Zschau 2012).

Wenn auch die Durchschnittswerte der Dendritenfelderdurchmesser im motorischen Kortex ($464\text{ }\mu\text{m} \pm 118$; Lund: $484.0\text{ }\mu\text{m} \pm 40,2$ (Makake)) relativ gut zu den Durchschnittswerten der Patchdurchmesser ($\emptyset 616\text{ }\mu\text{m} \pm 215,6$; Lund: $\emptyset 481,0 \pm 144,1$) zu passen scheinen, muss für den Motorkortex festgehalten werden, dass die Variationsbreite der Patches doch erheblich ist: $270 - 1550\text{ }\mu\text{m}$, Lund $180-850\text{ }\mu\text{m}$. Dennoch lässt sich aus der geringeren Variationsbreite der Dendritfeldgrößen kein Widerspruch zu der These konstruieren. Sie lässt sich in diesem Rahmen durchaus als zu den Patchgrößen passend interpretieren. Allerdings ist mir der Zusammenhang beider Größen nur in allgemeiner Weise einsichtig. Bei aller behaupteten Einheitlichkeit der Patches von ungefähr $400\text{ }\mu\text{m}$ (Shepherd 2004)⁶³, weisen die unterschiedlichen Größen von Pyramidenzellen und ihre Dendritenfelder in den verschiedenen Arealen auf einen nicht linearen Zusammenhang hin und es ist zu vermuten, dass die dendritischen und patchigen Dimensionen durch die sich evolutionär optimierenden Funktionen angepasst worden sind⁶⁴. So hat Malach (Malach 1994) theoretisch zeigen können, dass eine patchige Organisation die Funktionalität eines kortikalen Areals erhöht (Swindale, Shoham et al. 2000). Dieser Aspekt ist für die Parameterverarbeitung im Motorkortex ein interessanter Aspekt (s.u.). Binzegger et al. zeigen die dreidimensionale Ähnlichkeit axonaler Strukturen unterschiedlicher Neuronentypen auf (Binzegger, Douglas et al. 2005) und geben damit einen weiteren Hinweis darauf, dass bestimmte Organisationsprinzipien sich evolviert haben, die auch eine Ähnlichkeit aufnehmender und weiterleitender Strukturen einer Zelle betreffen könnten.

Boutons- Konnektivität

Nach der Länge der intrinsischen Verbindungen war ein weiterer überraschender Befund von Capaday et al. (Capaday, Devanne et al. 1998, Capaday 2004) die Synapsendichte auf den Axonen. Sie hatten bei ihren Untersuchungen eher beiläufig festgestellt, dass neben den Terminationsgebieten die intrakortikalen Axone in ihrer gesamten Länge von Boutons en passant besetzt waren, deren Dichte in den Schichten II und III am größten war. In der hier vorliegenden Untersuchung wurde die Häufigkeit der Boutons en passant entlang der Axone bestätigt, es konnten jedoch keine Unterschiede in der Boutondichte zwischen Peripherie und Somanähe festgestellt werden, da die Zuordnung eines Axons zu einer Zelle nicht möglich war. Es wurde die Vermutung geäußert (s. Kapitel 3.4.4), dass eher lokal unterschiedliche Verbindungsdichten prägend sind (für den visuellen Kortex vgl. (Anderson, Binzegger et al. 2002)).

⁶³ A.a.O. S.516

⁶⁴ Lund sieht die Korrelation durch dritte Faktoren bedingt und spricht auch nutritive und metabolische Zusammenhänge der Dendritenmächtigkeit mit dem axonalen Netzwerk an. S.a. Fujita and Fujita, 1996; Elston and Rosa, 1997, 1998a+b, Elston et al 1999a-c, 2000)

Es besteht jedoch eine Abhängigkeit der Dichte der Boutons und der Tiefe des Axons im Gewebe. Die größte Boutondichte in Schicht I nährt die Vorstellung, dass diese Schicht eine bedeutende Funktion in der Koordinierung vertikaler Funktionseinheiten hat. Das entspricht dem Befund, dass die apikalen Dendriten der Pyramidenzellen, die in Schicht I ragen (s. Abb. 88), in etwa die Ausdehnung des basalen Dendritensystems haben (Lund, Yoshioka et al. 1993, Harms, Rioult-Pedotti et al. 2008)⁶⁵.

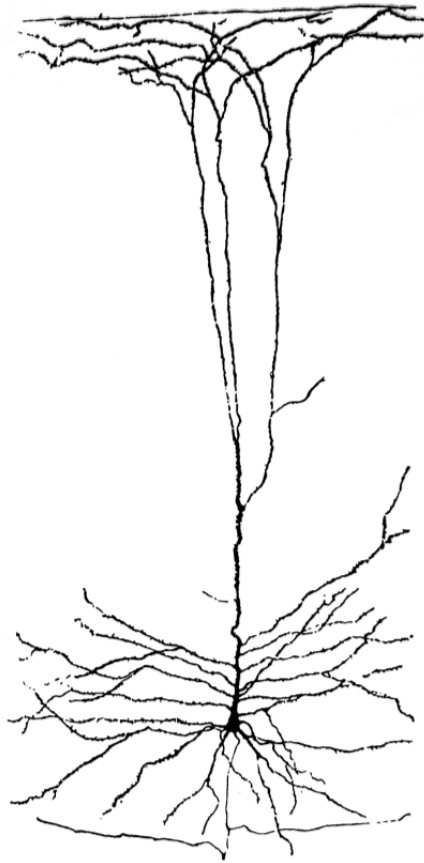


Abb. 88: Pyramidenzelle

Das Bild der Pyramidenzelle zeigt die Bedeutung von Schicht I, bis zu der die Apikaldendriten ziehen und sich verzweigend einen großen Verbindungsraum durchziehen.

Aus: Shepherd 1988, S.442

Diese Befunde können so interpretieren werden, dass die Axone ein Signal nicht nur gezielt an bestimmte Endpunkte (Keller and Asanuma 1993b), sondern in dem weiten Feld, das sie durchziehen, über Synapsen an viele Neurone verteilen. Die Beschreibung des Erscheinungsbildes „diffus“ verteilter Axone (s. S. 28 unten), die dem Färbungsbild entnommen ist, verdeckt damit die vermutlich hochspezifische Struktur der intrinsischen Verbindungen, die sich anatomisch auch in der Asymmetrie des Netzwerkes zu zeigen scheint (s.o.) (Yamashita and Arikuni 2001).

Bestätigung findet diese Sicht in Befunden beim Menschen anhand von fMRT- und TMS-Studien, die die interhemisphärischen Unterschiede in der Kortexdicke auf die Dominanz einer Hirnhälfte zurückführen. Sie bringen damit die sich in der größeren Kortexdicke widerspiegelnde höhere Dichte intrinsischer Verbindungen in Zusammenhang mit den unterstellten intensiveren internen Interaktionen der dominierenden Fähigkeiten, hier der Händigkeit (Fischl and Dale 2000, Hammond 2002, Hammond, Faulkner et al. 2004, Chen, He et al. 2008).

⁶⁵ Harms, a.a.O. S. 5686

Verbindungen zum prämotorischen und sensorischen Kortex

Der prämotorische Kortex zeigt in dem hier erhobenen Bild zwei möglicherweise wesentliche Unterschiede zum primären Motorkortex:

1. Die kleineren Dimensionen von Patches und Dendritenfelder, weniger verzweigten Dendritenästen und geringerer Boutondichte bei gleichen Reichweiten des intrinsischen Netzwerkes könnten auf eine etwas geringere Integrationsleistung der prämotorischen Funktionen im Gegensatz zu M1 schließen lassen.
2. Das nahezu völlige Fehlen der Zellen in Schicht V im prämotorischen Kortex, sofern real, würde das Argument in 1) stützen und zugleich die Integrationsleistung der efferenten Funktion der Schicht V in M1 unterstreichen.

Mir ist noch wichtig hervor zu heben, dass es in den Übergängen von prämotorischem Kortex zu M1 und von diesem zum somatosensorischen Kortex keine erkennbaren Grenzen im intrinsischen Netzwerk fest zu stellen waren. Auch wenn sich im Zentralsulcus die Areale von primärem Motorkortex und sensorischem Kortex klar unterscheiden lassen, sind die intrakortikalen Verbindungen fließend und ohne Brüche.

Ansonsten kann und soll im Rahmen dieser Arbeit der möglichen Bedeutung der Einzelergebnisse zum prämotorischen und somatosensorischen Kortex nicht weiter nachgegangen werden. Die Bedeutung wird vor allem in der Veröffentlichung der Daten gesehen.

Netzwerk und Funktion

Zusammengenommen wird auch für den Menschen ein langreichweitiges intrinsisches Netzwerk im Motorkortex bestätigt, und damit die Tatsache wahrscheinlich gemacht, dass die Distribution eines Signals im Bereich der horizontalen intrinsischen Verbindungen weit in die projizierten Gebiete hinein sehr ausgeprägt ist. Wenn man bedenkt, dass der sensorische INPUT in den primären Motorkortex sehr stark streut (Schieber 2001, dort nähere Literaturangaben) und auch die thalamischen Projektionen in M1, auch wenn in ihrer Bedeutung deutlich geringer, ebenfalls sehr distributiv sind, ergibt sich daraus ein Strukturmerkmal des Motorkortex hinsichtlich seiner intrinsischen Konnektivität. Diese distributiven, gleichwohl vermutlich spezifischen Verbindungen können zusammen mit den physiologisch nachweisbaren inhibitorischen Strukturen (Schneider, Devanne et al. 2002) und den weitreichenden, in der Regel exzitatorischen Verbindungen als das Substrat für die flexible Regelung motorischer Anforderungen und Notwendigkeiten angesehen werden.

Im nächsten Kapitel soll der Frage nachgegangen werden, ob diese Charakterisierung des Motorkortex ihn von anderen Arealen, insbesondere den sensorischen INPUT-Bereichen, unterscheidet.

4.3. Vergleich mit sensorischen und homotypischen Arealen

Die Existenz langreichweitiger horizontaler intrinsischer Verbindungen wurde in verschiedenen Hirnarealen aufgezeigt (Voges, Schüz et al. 2010b), in denen Axonterminalien von Pyramidenzellen patchig verteilt sind. Nachweise für diese intrinsische Konnektivität wurden vor allem für den visuellen (Gilbert and Wiesel 1979, Martin and Whitteridge 1984a, Fitzpatrick, Lund et al. 1985, Kisvárdy 1992, Yoshioka, Levitt et al. 1992, Levitt, Yoshioka et al. 1994, Fujita and Fujita 1996, Kisvárdy, Toth et al. 1997, Tanigawa, Wang et al. 2005, Van Hooser, Heimel et al. 2006), den somatosensorischen (DeFelipe, Conley et al. 1986b, Schwark and Jones 1989, Bernardo, McCasland et al. 1990, Lund, Yoshioka et al. 1993, Aronoff, Matyas et al. 2010) und den auditorischen Kortex (Wallace and Bajwa 1991) geliefert ebenso wie für homotypische (assoziative, höhere) Areale (Pucak, Levitt et al. 1996) und auch den motorischen Kortex (s. Kapitel 1).

In Hinsicht auf mögliche Unterschiede in der intrinsischen Konnektivität lohnt sich ein Blick auf die drei grundsätzlich unterscheidbaren Hirnrindentypen:

- Die inputorientierten granulären Kortexarealen (GC), mit den in ihnen dominierenden Körnerzellschichten⁶⁶, Beispiel: visueller Kortex (Kortexdicke 1,5 – 2 mm).
- Die outputorientierten agranulären Kortexarealen (AGC), mit den in ihnen dominierenden Pyramidenzellschichten, Beispiel: primärer Motorkortex (Kortexdicke 2,4 – 3,5 (max.5) mm).
- Die assoziationsorientierten homotypischen Kortexarealen (HC), mit der klassischen Mischung von Körner- und Pyramidenzellschichten, Beispiel: frontale Hirnbereiche Kortexdicke 1,9 – 2,5 mm.

Hier stellt sich die Frage, ob die intrinsische Konnektivität in den Arealen, insbesondere in den sensorischen INPUT- und den motorischen OUTPUT-Arealen, grundlegende Unterschiede oder Übereinstimmungen in Geometrie und funktioneller Struktur aufweisen.

Das Erscheinungsbild des intrinsischen Netzwerkes im visuellen Areal

Das visuelle System gilt als das Referenzsystem für andere Areale, in dem eine klare parallele und serielle Informationsverarbeitung durch Funktionskolumnen in retinotoper Ordnung über mehrere Areale verfolgt werden kann. Für die Körpersinne (somatotop) und das Hören (tono- bzw. cochleotop) liegen vergleichbare Modelle vor.

Die primären sensorischen Areale beeindrucken durch ihre klare Funktionsstruktur, die insbesondere im visuellen Areal in den Kolumnen gut untersucht und eindrücklich dargestellt wurde⁶⁷. Ausgehend von den retinalen Ganglienzellen werden auf drei unterschiedlichen Wegen unterschiedliche Informationen weitergegeben (Dudel et al. 2001). Dabei werden über die Sehnervenkreuzung retinotop Informationen beider Augen über die gleichen Positionen im Gesichtsfeld in den seitlichen Kniehöckern (laterale geniculate nucleus, LGN) zusammengeführt. Vom LGN werden bewegungsrelevante, retinotop In-

⁶⁶ Körnerzellen sind die kleinsten Nervenzellen. Sie sind exzitatorische Interneurone mit rundem Zellleib, der fast völlig vom Zellkern ausgefüllt wird, und kleinem Dendritenbaum (Haner, Scholtyssek 2000).

⁶⁷ Zur Problematik des Kolumnenkonzeptes s.u. Kap. 4.4.

formationen über Helligkeit, Räumlichkeit und Bewegung über den magnozellulären Pfad an V1 (Schicht 4C α) gesendet.

Über den parvozellulären Pfad, ausgehend von den Schichten 3 – 6 des LGN, werden retinotopie Informationen zu Gegenfarben (rot-grün) und Form (hohe Schärfe) an V1 (Schicht 4C β) in die Blobs und Interblobs geschickt. Der koniozelluläre Pfad, der von Zwischenschichten der LGN-Schichten ausgeht, versorgt die Blobs über Schicht II und III mit Informationen zu den Gegenfarben blau-gelb.

Alle drei Wege ziehen von den retinalen Ganglienzellen eines Auges (über das LGN) zu den Dominanzsäulen der Augen in V1, die wiederum aus orientierungssensitiven Zellsäulen bestehen, Blobs einschließen und zusammen Hyperkolumnen bilden. V1 ist retino-top organisiert, ebenso wie 30 weitere mit visueller Verarbeitung befasste Areale.

Die *intrinsischen langreichweitigen Verbindungen* der Schichten II/III in V1 verbinden verschiedene retinotopie Orte in Hinblick auf gleiche Orientierung beider Augen (okulare Dominanzsäulen) entlang einer Achse ihrer bevorzugten Richtung (Bosking, Zhang et al. 1997). Im visuellen Kortex bestehen die intrinsischen Patches ebenfalls aus supragranulären Pyramidenzellen (Gilbert and Wiesel 1979, Gilbert and Wiesel 1983a), wohingegen in den infragranulären Schichten nur undeutliche Patches auftreten oder ganz fehlen. Ein intrakortikales Verbindungsnetz ist auch in der Schicht IVB nachgewiesen (Rockland and Lund 1983).

Im visuellen Kortex konnten Asymmetrien im intrinsischen Netzwerk in Verbindung mit Funktionsähnlichkeiten (hier Orientierung und Kolinearität) gebracht werden (Schmidt, Goebel et al. 1997a).

Der primäre Motorkortex wurde in der Einführung beschrieben und die intrinsischen Verbindungen in den Ergebnissen und deren Diskussion vorgestellt. Im Folgenden sollen einige Details gegenübergestellt werden.

4.3.1. Zellzahlen in den Arealen und Zelldichte

Die offensichtlichen Unterschiede der drei Rindentypen des Kortex (s.o.) lassen sich in Hinblick auf zwei grundlegende Parameter vergleichen: die Zelldichte und die Kortextdicke. Das folgende Bild visualisiert die Unterschiede. Die Sechsschichtigkeit des Kortex kann in allen Arealen wiedergefunden werden, wobei insbesondere die Schichten III und IV deutliche Unterschichten zeigen können. Tabelle 15 gibt die Zellanzahlen der Schichten in verschiedenen Arealen wieder.

Es zeigt sich, dass in allen sensorischen Arealen die Zelldichten wesentlich höher sind als im motorischen Kortex (vgl. Tab. 15 und 16), was sich auch in Abbildung 89 deutlich erkennen lässt. In ihr sind Querschnitte aus verschiedenen Arealen des Makakengehirns abgebildet. Der primäre visuelle Kortex zeigt die höchste Zelldichte, der motorische die geringste. Die Querschnitte aus den Assoziationsarealen des visuellen Kortex (Area 18) und des frontalen Kortex (Area 9) nehmen bzgl. der Zelldichte eine Mittelposition ein.

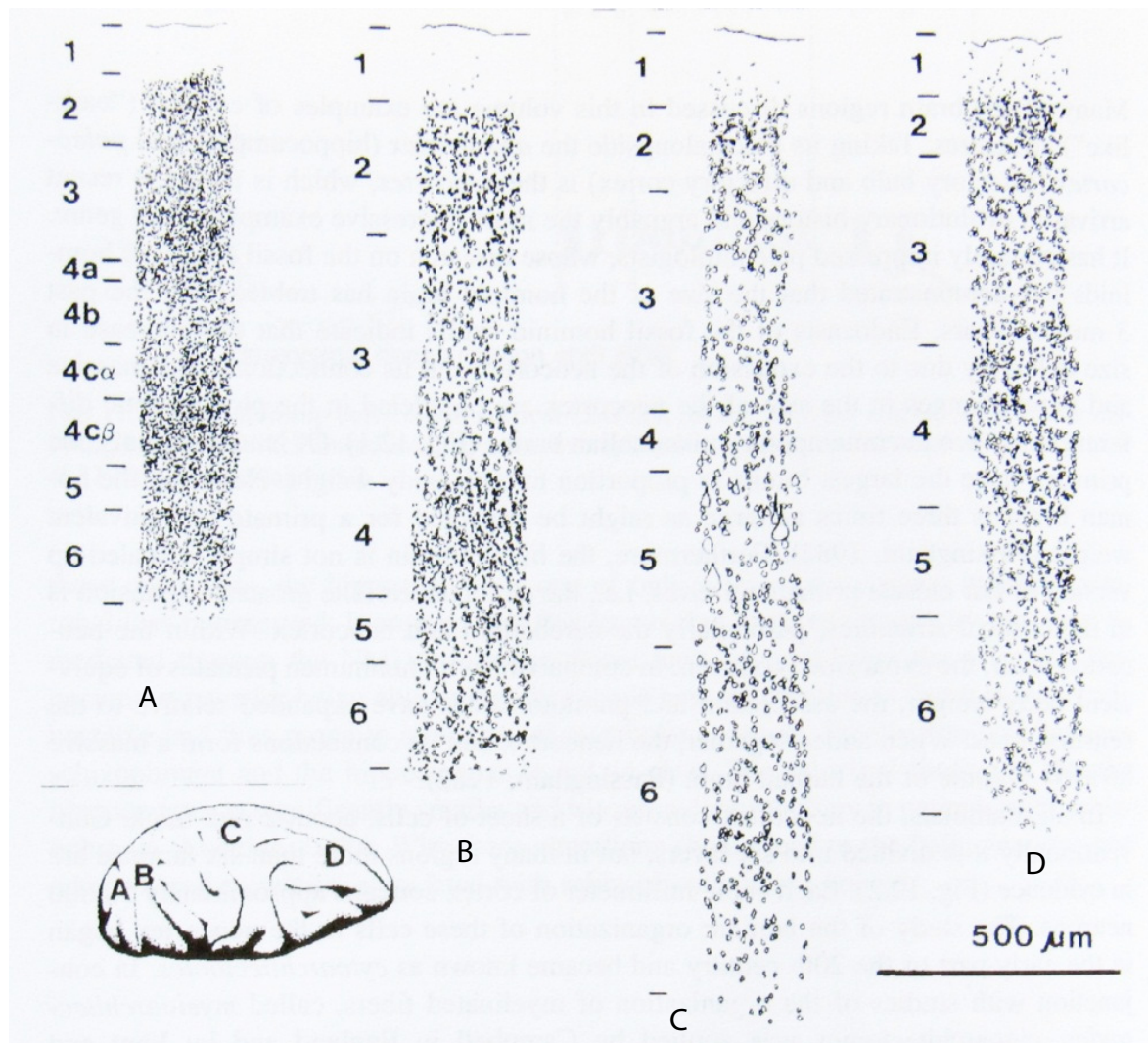


Abb. 89: Zelldichten verschiedener Kortexareale

Die Organisation der Neurone in den Kortexschichten verschiedener Areale im Makakengehirn:

A: Area 17 (visueller Kortex V1) als Beispiel für den granulären Kortex,

C: Area 4 (Motorkortex) als Beispiel für den agranulären Kortex,

B: Area 18 (visueller Kortex außerhalb V1) und D: Area 9 (frontaler Kortex) als Beispiele für die homotypischen Kortexareale.

In allen Arealen kann die grundlegende sechsschichtige Struktur identifiziert werden. Schicht I wird von der Hirnhaut bedeckt, die weiße Substanz ist unter Schicht VI. Beachte die bemerkenswerten Unterschiede in Zellgröße und -dichte zwischen den verschiedenen Arealen, auch zusätzliche Schichten sind erkennbar in bestimmten Arealen (z.B. Area 17). Die riesigen Neurone in Schicht V der Area 4 sind die Betz-Zellen. (Celloidin-eingebettetes Gehirn, geschnitten in 40 μ m dicke parasagittale Schnitte, Nissl-gefärbt, unkorrigiert bzgl. Schrumpfung)

Aus: Shepherd 2004, S.500

Tab. 15: Zellzahlen/ 0,1 mm³ in den Schichten der Areale nach v.Economo/Koskinas (1925, S.798f))

	I	II	III	IV	V	VI
M1	6 - 8	55	30 / 20 / 32	0 (42)	15 - 17	25 / 15
V1	8 - 10	150	100	150-200 / 70 / 200-220	50 – (80)	140 / 20
S1	1 8 - 10	115	64/40/15-30	160	20 – 45	30-50 / 16
	2 8	100 - 210	105	120 – 230	45 – 60	60 / 15-20
	3 8 - 10	135	35 / 28 / 25	130	30	45 / 20
A1	6 - 8	90	40 / 35	120	40	30 / 15
Prämot.K	6 – 8	62 - 140	30 / 25 / 18	35	25 – 30	23-28 / 16- 15

Legende: / = Schichtunterteilung

In Primaten beträgt die größere Zelldichte des primären visuellen Kortex gegenüber dem Motorkortex das 2,5 – 6,3 fache (Cragg 1967).

The density of neurones in cerebral cortex (no. per cc × 10⁻⁶)

Species	Brain weight (g)	Visual cortex	Motor cortex
Mouse	0.45	87.3	46.2
	0.49	107.4	64.4
	0.52	92.4	56.4
Rat (Wistar albino)	1.8	48.8	—
	2.2	31.6	—
	2.6	46.8	—
	1.9	53.9	—
	2.0	47.2	25.1
<i>Galago sen. sen.</i> (Bush-baby)	4.9	95.7	33.5
	5.1	106.7	49.3
Rabbit	8.5	47.0	22.8
	7.5	41.3	27.6
Cat	29	34.0	—
	34	49.4	25.4
Pig	76	21.5	15.7
Monkey (<i>Macaca mulatta</i>)	86	104.2	—
	72	126.7	16.1
	75	110.3	20.7
Man		51.9	—
	1400	27.9	9.9

Tab. 16: Zelldichten des visuellen und motorischen Kortexareals verschiedener Spezies

Der Tabelle kann die Zelldichte des visuellen und motorischen Kortex verschiedener Spezies entnommen werden und in Relation zum Gehirngewicht gesetzt werden. Die größere Zelldichte des visuellen Kortex gegenüber dem Motorkortex ist durchgängig und beträgt bei Primaten das 2,5 – 6,3 fache. Die Beziehung zum Gehirngewicht lässt nur allgemein die Aussage zu, dass die Gehirngröße innerhalb des Stammbaums zunimmt und die Zelldichten abnehmen, mit speziesspezifischen Gegebenheiten. Zellzahlen pro 1/10 mm³. Aus: Cragg 1967, S. 645

Auch in anderen Spezies ist das Verhältnis ähnlich: der Motorkortex weist eine geringere Zelldichte auf.

4.3.2. Die Reichweiten der intrinsischen Verbindungen

Tab. 17: Reichweiten intrinsischer Verbindungen in den supragranulären Schichten	Entfernung	
Primärer Motorkortex (vgl. Tab. 12)	in mm	Maximal (mm)
Katze	3	7
Affe	3 - 6	7 - 8
Mensch	6	12
Primäre sensorische Areale		
Visueller Kortex (Gilbert and Wiesel, 1979, 1983a; Martin and Whitteridge, 1984a; Review, s.(Gilbert 1992, Galuske and Singer 1996, Schmidt, Stephan et al. 2002) (Luhmann, Martinez Millan et al. 1986, Luhmann, Singer et al. 1990) fluoreszierende Latexmikrosphären, Katze	4 0,5 – 2,65 3,5	8 (einzelne Zellen)
(Tanigawa, Wang et al. 2005) V1 Affe, BDA- und PHA-L Injektionen	2	
(Yoshioka, Blasdel et al. 1996) visueller Kortex V1, Biocytin, CO-Histochemie + optical imaging, Affe	3,7	
(Burkhalter and Bernardo 1989b) Mensch, V1, V2	1 - 2	6
(Kisvarday, Toth et al. 1997) V1 und V2 Biocytin, Katze	3,5	
(Wallace, Kitzes et al. 1991) Auditorischer Kortex, Katze, ähnlich (Galuske, Schlote et al. 2000) Mensch		6
Somatosensorischer Kortex (Lund 1993)		~3 - 4

Assoziative sensorische Areale		in mm
(Yoshioka, Levitt et al. 1992) Biocytin V4, Affe		6 - 8
(Tanigawa H 2005) TE Affe, BDA- und PHA-L- Injektionen		8
(Galuske, Schlote et al. 2000, Zschau 2012) interhemisph. Mensch		7

Assoziative motorische o. frontale Areale		in mm
(Zschau 2012) Broca + frontales Augenzentrum, Mensch, interhemisph. Unterschiede		7,5
(Lund, Yoshioka et al. 1993, Pucak, Levitt et al. 1996) (prä-)frontale Areale		7-8

Weitere Daten s. (Voges, Schüz et al. 2010b)

* Legende:

BDA = biotinyliertes Dextranamin
CO = Cytochromoxidase

PHA-L = Phaseolus vulgaris leucoagglutinin
STP = superior temporal polysensory region
TE = inferior temporal cortex
V = visueller Kortex (mit Arealnummer)

Hinsichtlich der Reichweite der intrinsischen Verbindungen weisen die motorischen und assoziativen Bereiche bei Katze, Affe und Mensch etwa gleiche Werte im Bereich von 7 - 8 mm auf mit der beim Menschen im primären Motorkortex größten Reichweite von 12 mm. Demgegenüber zeigen die primären sensorischen Areale doch deutlich geringere Weiten um die 3 – 4 mm, die selbst bei Menschen maximal 6 mm erreichen. Sie liegen damit je nach Areal und Untersuchung zwischen 10 – 50% niedriger als die motorischen Reichweiten. Bei der Katze erstaunen daher die gemessenen 8 mm im visuellen Kortex. Dieser Wert muss daher zum Anlass genommen werden, die hier recht eindeutig formulierte These über die Unterschiede zwischen den primären sensorischen und motorischen Arealen mit einem Fragezeichen zu versehen. Ob der Grund in der unvollständigen Trennung sensorischer und motorischer Zentren im Katzenhirn liegt, vermag ich nicht zu beurteilen. Verbindungsökonomisch gedacht spricht einiges dafür und würde die Trennung der Areale in höher stehenden Säugetieren begründen.

Andererseits kann die Frage, wovon die Reichweite der intrinsischen Verbindungen abhängt, mit Recht auch in Hinblick auf die Hirngröße aufgeworfen werden. Hat z.B. ein Tiger, der eine größere Retina und größeres Hirn hat, bei gleicher Sehschärfe wie eine Katze auch länger Horizontalverbindungen? Soweit ich den Sachverhalt überblicke, hat das Gehirn eine Vergrößerung nicht immer mit einer Vergrößerung der Elemente, sondern alternativ mit einer stärkeren Untergliederung gelöst. Der Neokortex zeigt dies in seinem Aufbau aus iterativen Elementen, in dem die Netzwerke nach verbindungsökonomischen und informationsprozessualen Prinzipien (Small-world-Netzwerke) organisiert zu sein scheinen (s. Kap.4.8.). Dies würde vergleichbare Daten (hier der Reichweiten der Horizontalverbindungen) trotz unterschiedlicher Hirngröße bedeuten.

Die hier vorgetragene Argumentation hinsichtlich des Unterschiedes zwischen sensorischen und motorischen Arealen läuft darauf hinaus, den Bedarf an Koordination mit der Länge der Horizontalverbindungen zu korrelieren.

4.3.3. Patches - Patchgrößen

Tab. 18: Daten zu Patches

Primärer Motorkortex (vgl. Tab. 14)	Ø in µm	Fläche in mm ²	IPD in µm
Affe	510 ±160	40	900
Mensch	615 ±213	0,3 / patch	1400
Primäre sensorische (visuelle) Areale	Ø in µm	Fläche in µm ²	IPD in µm
(Wise and Jones 1977) Terminationsgebiet (corticotectal projections) von S1 in Colliculus, ähnlich im stratum griseum superficiale (vom visuellen Kortex aus), Ratte	200		
(Rockland, Lund et al. 1982) visueller Kortex, Tupaja	400		1000 (A)
(Luhmann et al. 1986) visueller K., Katze	200- 400		400 – 800
(McGuire, Gilbert et al. 1991) V1 Affe	250 -400		400 – 800
(Yoshioka T et al 1996) visueller Kortex, Biocytin, CO-Histochemie + optical imaging, Affe	200 – 300		350 - 500
(Tanigawa H 2005) TE und V1 Affe, BDA- and PHA-L injections	Br: 250 +/- 57 L: 390 +/- 93	80000 +/- 29000	630 +/- 190
(Kisvarday, Toth et al. 1997) iontoph. Biocytin, ICMS, Katze, V1 + V2	500 -600 (ranging 200 – 1000)		~900
Assoziative sensorische Areale			
(Yoshioka T et al 1996) V2 visueller Kortex, Biocytin, CO-Histochemie + optical imaging, Affe	250 - 300		400 – 1000
(Yoshioka T et al 1992) V4, Biocytin	250 – 450		450 – 1300
(Kisvarday et al 1997) iontoph. Biocytin, ICMS, Katze, V1 + V2	500 -600 (ranging 200 – 1000)		~1200
(Tanigawa H 2005) TE und V1 Affe, BDA- and PHA-L injections	Br: 350 +/- 71 L: 550 +/- 180	156000 +/- 73000	1300 +/- 650
Assoziative motorische u. frontale Areale			
Mensch, prämotor.K. (vorliegende Unters.)	450 - 700		
(Cusick, Seltzer et al. 1995) Terminationsfeld von Area 46 zu STP (TPOr)*	300 - 500		
(Zschau 2012) Broca, Mensch	400 - 600		

* Legende: BIC = Bicucullin-Methiodid
BDA = biotinyliertes Dextranamin
CO = Zytochromoxidase
ICMS = intrakortikale Mikrostimulation
MUA+SUA = multi- und single-unit-activity

PHA-L = Phaseolus vulgaris leucoagglutinin
STP = superior temporal polysensory region
TPOr = temporal parietal occipital rostral (Teil von STP)
TE = inferior temporal cortex
V = visueller Kortex (mit Arealnummer)

In den sensorischen Arealen scheint die Patchgröße nur gering zu variieren (Werte: 300 – 400 μm), während die Untersuchungen am Motorkortex einen um etwa ein Drittel höheren Durchschnittswert (615 μm) und eine größere Variationsbreite (Werte: \pm 213 μm) zeigen. Erstaunlich ist jedoch, dass die Patchgrößen in auch sehr unterschiedlich großen Hirnen relativ gleich groß sind. Diese Sicht kann schon dazu verführen, darin ein einheitliches Grundelement der Kortexarchitektur zu sehen, das innerhalb der Evolution verschiedener Spezies nur modifiziert wurde.

4.3.4. Boutons und Konnektivität

Vorliegende Untersuchung: M1: 7,2/100 μm , Prämotorischer Kortex: 5,6/100 μm

Wenn man die Interboutondistanzen (IBD) des visuellen Kortex der Katze von Martin und Whitteridge (Martin and Whitteridge 1984a) auswertet und einen Durchschnittswert errechnet, erhält man für die Boutons en passant einen Wert von 12,4 Boutons pro 100 μm , für die „club-like“-Boutons einen Wert von 15,1 Boutons pro 100 μm . Die Werte sind etwa doppelt so hoch wie die im humanen Motorkortex gefundenen von 7,2 Boutons pro 100 μm .

Die höhere Zelldichte scheint auch eine größere Verbindungsdichte mit sich zu bringen. Diese Daten sind jedoch mit Vorsicht zu interpretieren, wie Untersuchungen im visuellen Kortex der Katze von Binzegger (Binzegger, Douglas et al. 2007) zeigen. Die höchsten Boutondichten lagen in den Axonterminationsclustern und zwar in denen, die dem Zellkörper am nächsten lagen. Binzeggers Interesse galt diesen geclusterten Boutons, deren Dichte bei exzitatorischen Zellen im Durchschnitt 1,5 Boutons pro 50 μm^3 betrug und nicht mit den linearen 2-D-Auswertungen von Martin/Whitteridge und dieser Arbeit vergleichbar ist. Die Dichte der nichtgeclusterten Boutons kann anhand der Abbildungen der Arbeit nur abgeschätzt werden, dennoch dürfte sie immerhin ein Drittel bis zur Hälfte aller Boutons ausmachen. Aussagekräftiger für die hier angestellten Überlegungen sind die Verbindungskontakte von Neuronen, die bei Affen einen Durchschnittswert von 5600 Synapsen pro Neuron in V1 gegenüber 60000 in M1 ergaben (Cragg 1967). D.h. M1 bildet bis zu 10x mehr Verbindungen gegenüber V1 aus. Bei durchschnittlich gleich vielen Verbindungen zwischen zwei Neuronen bedeutet dies den Kontakt mit 10x mehr Neuronen. Unterstellt, dass jeder Kontakt spezifisch ist (Anderson, Binzegger et al. 2002), spiegeln diese Daten eine enorme Koordinationsleistung wider.

4.3.5. Zusammenschau der Vergleiche

Die Unterschiede in Schichtaufbau und Zelltypenverteilung zwischen den drei Gewebetypen, die schon früh erforscht worden waren, heben die eher unauffälligen Unterschiede in den intrinsischen Verbindungsstrukturen hervor, die in allen Gewebetypen vor allem in den Schichten II und III mit etwas unterschiedlichen Reichweiten gefunden wurden.

Der Vergleich mit sensorischen Arealen zeigt eine dem modifizierten Schichtenaufbau des Kortex entsprechende Modifizierung der intrinsischen Verbindungen. Auch hier bilden die supragranulären Schichten ein weitreichendes intrinsisches Netzwerk aus, wobei 80% der Verbindungen exzitatorische Verbindungen zu anderen Pyramidenzellen sind und ca. 20% inhibitorische Zellen erreichen. Der auffällige Unterschied zeigt sich verständlicherweise in der Schicht IV, die im motorischen Kortex eine dünne Trennschicht zwischen den Neuronenpatches der Schicht II und III und denen in Schicht V und VI bildet, während sie im visuellen Kortex ein relativ ausgeprägtes intrinsisches Netzwerk in Schicht IVB, der INPUT-Schicht, enthält (Rockland, Lund 1983). Die Schichten V und VI des visuellen Kortex dienen im Wesentlichen dem Feedback an Hirnstamm (Colliculus) und Thalamus (LGN), während sie in M1 vor allem die Output-Schicht (feedforward) ist.

Verdeutlichen diese Unterschiede aber nicht nur die grundlegenden Unterschiede in den Gewebetypen, die sich hinsichtlich afferenter und efferenter Orientierung voneinander trennen lassen?

Bei den strukturellen Unterschieden input- und outputorientierter Areale müssen bei dem hier angestrebten Vergleich ein oder mehrere Kriterien gefunden werden, die den möglicherweise unterschiedlichen Charakter insbesondere der intrinsischen Verbindungen hervorhebt. Als Indikatoren sind vor allem Kortexdicke, Zelldichte und Verbindungsdichte interessant. Eine Faustregel besagt, dass in der Evolution die höheren Zelldichten bei niederen Säugern und die größere Kortexdicke bei höheren Säugern, insbesondere Primaten, zu finden sind, die auf die zunehmende Verbindungsdichte zurückgeführt werden. Interessant dabei ist, dass bei größeren Gehirnen in der Regel auch die Zellzahlen absolut zunehmen.

DeFelipe weist allerdings darauf hin, dass diese Faustregel nur eine grobe Orientierung gibt und im Einzelfall geprüft werden muss. Die Muster der synaptischen Organisation sind charakteristisch für jedes kortikale Areal und für jede Spezies (Defelipe 2011)⁶⁸.

Wenn auch diese vier Parameter (Zellzahl, Kortexdicke, Zell- und Verbindungsdichte) noch keine Indikatoren für mentale Fähigkeiten darstellen (Roth and Dicke 2012)⁶⁹, so können sie als strukturelle Merkmale jedoch Indizien für funktionelle Unterschiede sein.

⁶⁸ A.a.O. S.10

⁶⁹ "Recent studies have shown that the intracortical organization in mammals regarding density, size and shape of pyramidal cells and spine density is more variable than previously assumed. In the prefrontal cortex of macaque monkeys and humans, respectively, neurons carry up to 16 and 23 times more spines than neurons in the primary visual area, and dendrites are more branched. These differences are interpreted as indicating a greater IPC of the prefrontal cortex." (a.a.O. S.254)

"Of the more general brain features discussed here, number of cortical neurons combined with a high conduction velocity of cortical fibers correlates best with intelligence." (a.a.O. S.256)

"Given the higher conduction velocity and smaller distances between neurons, the human cortex probably has the greatest IPC." (a.a.O. S.253f, IPC = information processing capacity)

Zusammenfassung der oben genannten Daten zu den verschiedenen Arealen

Kortextyp	GC	AGC	HC
Indikator			
Kortexdicke	1,5 - 2	2,4 – 3,5 (max. 5)	1,9 – 2,5
Zelldichte	hoch	niedrig	mittlere
Verbindungsichte intrinsisch, Synapsendichte	niedrig	sehr hoch	hoch

Tab. 19: Vergleich der drei Rindentypen des Neokortex
s.a. (Zilles 2006)

Da sich Zelldichte und Konnektivitätsdichte umgekehrt proportional zueinander verhalten, können sie als Indiz für die Komplexität der Informationsverarbeitung dienen. Die Hypothese lautet daher: Der Motorkortex hat eine wesentlich höhere Verbindungsichte als die primären sensorischen Areale, die in den unterschiedlichen Koordinierungsanforderungen gründen. Die Hypothese interpretiert die möglicherweise nur geringen strukturellen Unterschiede als Ergebnis funktioneller Eigenheiten. An der höheren Verbindungsichte wird der Koordinationsbedarf deutlich, der in efferenten Arealen komplexer ist, d.h. viele und weit gestreute Quellen integriert werden müssen. Der Bedarf ist vergleichbar mit hochkomplexen assoziativen Arealen und geht wahrscheinlich darüber hinaus.

Ein Beleg für die These der Korrelation von höherer Verbindungsichte und –weite mit dem Koordinierungserfordernissen liefern auch die sensorischen Bereiche selbst. Z.B. sind die intrinsischen Verbindungen und Patches in V4 gegenüber V1 und V2 weiter im Gewebe verteilt (bis 8mm), die Patches und die Interpatchdistanz (IPD) größer. Als ein weiterer Beleg kann auch das horizontale Netzwerk in Schicht IVB (Rockland, Lund 1983) des visuellen Kortex angesehen werden, das um ein Drittel weiter reicht als das in den Schichten II und III, weil es, so die hier vertretene These, Informationen des bewegungsrelevanten, magnozellulären Pfades transportiert, die komplexere Zusammenhänge betreffen und einen höheren Koordinationsbedarf haben.

Interpretationsversuch

Sensorische Areale müssen eine topografische Zuordnung haben, damit die Zusammenhänge der Stimuli erhalten bleiben. Die Sicherung dieser Zusammenhalte über die verschiedenen Verarbeitungsstationen muss gewährleistet werden (Bindungsproblem)⁷⁰, während der Koordinationsbedarf eher gering ist und erst in den nachgeordneten assoziativen Arealen steigt (die dementsprechend größere Kortexdicken, geringere Zelldichten und höhere Verbindungsichten aufweisen). Die intrinsischen Verbindungen müssen eine

⁷⁰ Im Visuellen Kortex konnte die Erfahrungsabhängigkeit der Verbindungsichte nachgewiesen werden. (Schmidt, Goebel et al.1997a). Sie werden in der Arbeitsgruppe von Singer mit grundlegenden Gruppierungsmechanismen im Sinn der Gestaltkriterien und den Möglichkeiten der Synchronisierung von Neuronenpopulationen in Verbindung gebracht.

interne, inhärente Struktur bereitstellen, die den Zusammenhalt parallelverarbeiteter zusammengehörender Informationen analog zur Umweltreizsituation gewährleisten und mit den internen Modellen / Erfahrungen abgleichen (Bedeutung der Feedback-Verbindungen, Liquid-State-Modell⁷¹ (Maass, Natschlager et al. 2003, Lazar, Pipa et al. 2007, Rabinovich, Huerta et al. 2008).

Motorische Areale müssen für situative Veränderungen adaptiv und kompatibel bleiben. Neben den topografischen Zuordnungen sensorischer Informationen ist die Abweichungskontrolle der zielbezogenen Bewegungen und deren Korrekturmöglichkeiten besonders wichtig. Hier ist der Koordinations- und Integrationsbedarf sehr hoch, sowohl in Hinblick auf die zusammengehörenden sensorischen Elemente als auch auf die zeitliche Abfolge der generierten Bewegungsmuster. Die motorischen intrinsischen Verbindungen müssen eine kohärente interaktive Struktur bereitstellen, die divergierende räumliche und zeitliche Informationen integriert. In diesem Zusammenhang ist die Untersuchung von Capaday und Rasmusson im Rahmen intrakortikaler Hemmung interessant. Sie stellten fest, dass eine Minderung der lokalen Hemmung, die den sensorischen Eingang begrenzt, zu einer Ausweitung der rezeptiven Felder der motorischen Neurone führt, d.h. eine Erweiterung der sensorischen Eingabe bedeutet, ohne diese zu modulieren. Sie interpretierten dieses Ergebnis so, dass die inhibitorische Kontrolle der sensorischen Eingänge in M1 eine andere Funktion hat als die inhibitorische Kontrolle im sensorischen Kortex, die der Begrenzung der rezeptiven Felder und dem Ausschluss unerwünschter Eingänge dient: im Motorkortex scheine sie durch die Flexibilität der rezeptiven Felder der Integration der Kontraktionsmuster z.B. einer Extremität zu dienen (Capaday and Rasmusson 2003)⁷².

Olshausen bringt in seinem Artikel über die Grenzen unserer Kenntnisse des visuellen Systems ein schönes Beispiel, das den Unterschied veranschaulichen kann. Eine junge, unerfahrene Springspinne erkennt ein Beutetier (Fruchtfliege) sofort. Die Präzision der Signalerkennung muss hinreichend sein, um Beute von anderen Objekten zu unterscheiden. Individuelle Variationen des Beutetiers und Ungenauigkeiten im Wahrnehmungsprozess können dennoch sicher zum Erkennen des Objektes als Beutetier führen. Die Koordination der Reize stellt an die Präzision hohe, aber begrenzte Anforderungen.

Beim Fangversuch hat die Springspinne nicht immer Erfolg und muss Erfahrungen für sicheres Erbeuten sammeln (Olshausen 2010). Im Gegensatz zur Wahrnehmung sind Ungenauigkeiten beim Sprung von Misserfolg gekrönt. Auch wenn damit noch nicht geklärt ist, an welcher Stelle der kortikalen Verarbeitung erhöhter Koordinationsbedarf beim Erwerb gezielter und effektiver Beutefangbewegungen entsteht, spricht doch viel dafür, dass die verhaltensgenerierenden Bereiche beteiligt sind. Insbesondere Rizzolatti und Luppino (2001) entwerfen ein Bild des Motorkortex, der hohe Integrationsleistungen vollbringt (s. Kap. 6). Die Steuerung des Verhalten muss neben der Koordinierung der sensorischen Wahrnehmungen, eine zielgerichtete Bewegung generieren und vor allem durchführen,

⁷¹ 90% der Eingänge in V1 sind Feedback-Verbindungen höherer visueller Areale. Das Liquid-State-Modell beschreibt Wahrnehmung als Prozess, in dem die Signale immer auf dem Hintergrund bisheriger Erfahrungen gedeutet und eingeordnet werden.

⁷² Vgl. S. 120

die mit der Wirklichkeit tatsächlich kompatibel und deshalb sehr präzise sein muss. Hier ist Lernen nötig und situative Kontrolle der Bewegung gefragt. Insofern würden die anatomisch besonderen Merkmale (Zell- und Verbindungsichte, Kortexdicke) der efferenten Areale durch den hohen Koordinierungsbedarf von afferenten Eingängen, assoziativer Verarbeitung und efferenter Verhaltensgenerierung plausibel.

4.4. Sind die Patches eine modifizierte Funktionskolumne?

Die hohen Koordinierungsanforderungen an den Motorkortex werfen die Frage auf, ob sich in den Patches eine möglicherweise sogar uniforme modulare Funktionsstruktur zeigt. Die Frage in diesem Zusammenhang ist also nicht, ob sich horizontale und vertikale Strukturierungen etablieren, sondern ob diese Differenzierungen zu anatomisch identifizierbaren vertikalen Strukturen führen, die hier als Patches in Erscheinung treten und generell in der neurowissenschaftlichen Literatur mit dem Begriff der Kolumne verbunden sind. Die Tatsache, dass die Patches durch das Neuropil hervortreten, also einer dichten Ansammlung von Neuronen, Dendriten und Axonen sowie die patchige Erscheinung der Terminalfelder der Axone, deutet auf eine hohe wechselseitige Konnektivität hin, die die Funktionen tragen. Ein weiteres Indiz für eine auch universelle Grundstruktur wird in der relativen Einheitlichkeit der Patches/Cluster/Module/Kolumnen gesehen, die mit „um die 400 μm “ (Shepherd 2004) angegeben wird und damit die Größenordnung trotz interspezifischer Varianz beziffert.

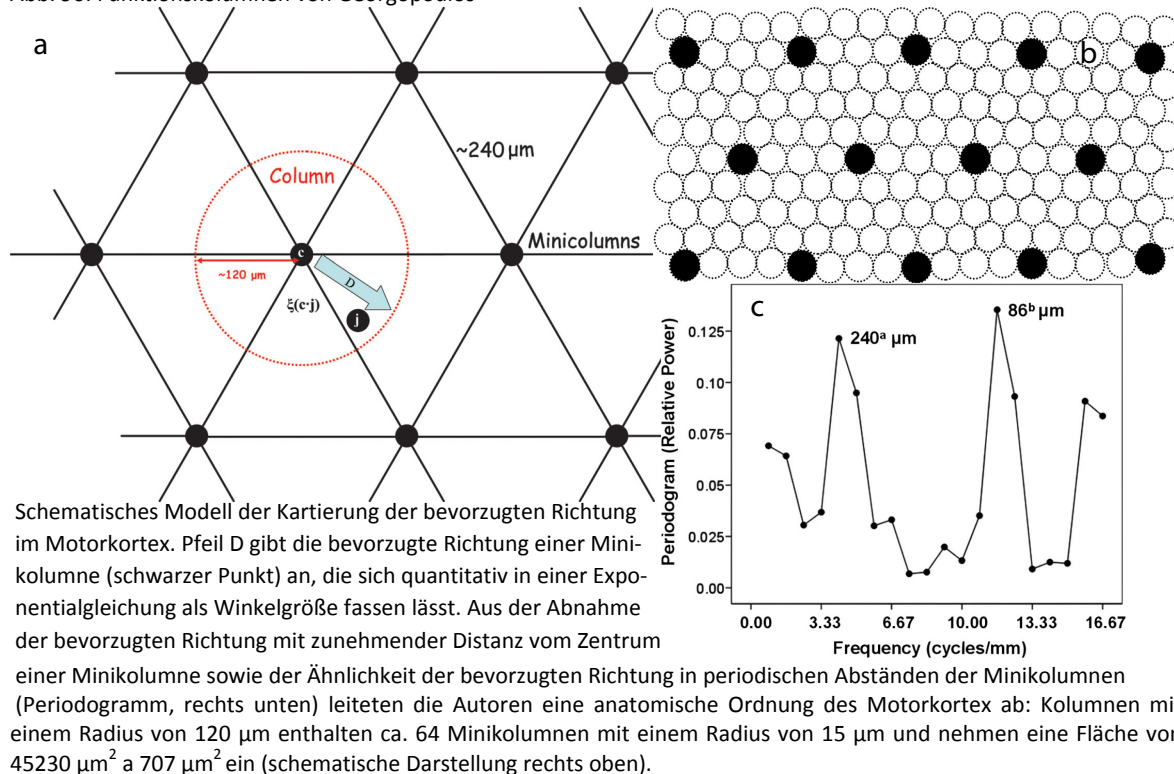
1957 hatte Mountcastle die Idee einer vertikalen Funktionsorganisation von Lorente de Nó (Lorente de Nó 1949, Buxhoeveden and Casanova 2002) aufgegriffen, als er die Verbindung zwischen der Sensibilität einer Neuronensäule im primären somatosensorischen Kortex mit dem zugehörigen rezeptiven Feld der Peripherie (Haut/Haare oder Gelenkstellungen) nachweisen konnte (Mountcastle, Davies et al. 1957a, Mountcastle 1957b, Mountcastle 1997). Diese Kolumnenstruktur wurde insbesondere durch die Arbeiten von Hubel und Wiesel 1962 (Hubel and Wiesel 1962) bestätigt und als allgemeine Struktur des Neokortex angesehen. Diese Sicht gipfelte in der inzwischen unhaltbaren These (Herculano-Houzel, Collins et al. 2008) von Rockel et al (Rockel, Hiorns et al. 1980) über die grundlegende Uniformität des Neokortex, die sie in der vermeintlichen Regelmäßigkeit von 110 Neuronen pro Kolumne sahen.

2005 zeigten Horton und Adams in ihrem Review, wie die ursprüngliche Mountcastle-Definition einer scharf abgegrenzten Funktions-Kolumne (zwischen Haut- und Gelenk-Modalität) nur scheinbar von Hubel/Wiesel bestätigt wurde, weil sich herausstellte, dass die V1-Zellen gleitende Übergänge ihrer Orientierungspräferenzen und dabei oft eine breit angepasste Bevorzugung zeigen⁷³. Auch Annahmen, z.B. dass die Verbindungsstruktur innerhalb der Kolumne enger und stärker sei als zwischen Kolumnen, haben sich heute nach genauer Untersuchung als falsch erwiesen (da Costa and Martin 2010). Gleichwohl diente das Wort „Kolumne“ in der wissenschaftlichen Diskussion als Begriff für die vertikale funktionelle Gliederung eines Areals. Und so konnten motorische Neuronen-

⁷³ A.a.O. S.840

gruppen (Landgren, Phillips et al. 1962b)⁷⁴ einer kleinen Stelle im Motorkortex (1 mm^2)⁷⁵ des Pavians identifiziert werden, die auf ein einziges Motoneuron projizieren. Nahe beieinander liegende Neurone im primären Motorkortex erhalten sensorischen INPUT von angrenzenden Gebieten der Peripherie⁷⁶. Asanuma, der das Kolumnenkonzept für den Motorkortex begründete, fand mit der neu eingeführten intrakortikalen Mikrostimulation Neuronenkolonien, die räumlich eng begrenzt waren, deren Grenzen jedoch auf zwei unterschiedliche kortikospinale Projektionstypen schließen ließen, einen diffusen und einen mit spezifischem Ursprung und Termination (Asanuma 1975a)⁷⁷. Mit dieser Methode wurde auch die inhibitorische Rückkopplung zu den exzitatorischen Pyramidenzellen innerhalb einer vertikalen Neuronensäule ermittelt, ein wesentliches Element der Kolumnenvorstellung (DeFelipe 1989+1997, (DeFelipe and Jones 1985, Sherwood, Holloway et al. 2004, Zaitsev, Gonzalez-Burgos et al. 2005). Dieser Interpretationsstrang gipfelte in dem fundierten Kolumnenmodell richtungsorientierter Neuronenpopulationen, das Georgopoulos vorgestellt hat (Amirikian and Georgopoulos 2003, Naselaris, Merchant et al. 2005, Georgopoulos, Merchant et al. 2007a).

Abb. 90: Funktionskolumnen von Georgopoulos



Aus: Georgopoulos AP 2007, S. 11070f, methodische Details s. Naselaris, T et al. 2005

⁷⁴ Sie nannten das Kortexareal mit geschätzten 18000 Pyramidenzellen und 90 Betzzellen „colony“. Sie hat einen „best point“ der maximalen Motoneuronstimulation. Die Felder für verschiedene Motoneurone überlappen sich. S.S.112+123f, Vgl. Fußnote 23: die „centroide“ der TMS-Studien (s. Kap.1.4., S. 19).

⁷⁵ Dieser Wert, von der stimulierten Oberfläche gemessen, konnte durch die genaueren Untersuchungen mittels intrakortikaler Mikrostimulation als arithmetischer Mittelwert ($0,5 - \text{mehrere Millimeter}$) bestätigt werden (Asanuma (1975a), S.144+153).

⁷⁶ Mountcastle (1957b), entnommen Asanuma (1975a). Dabei ist zu beachten, dass bei Katzen der motorische und sensorische Kortex noch nicht klar voneinander getrennt sind.

⁷⁷ A.a.O. S. 153

Kritik des Kolumnenkonzepts

Anfang der neunziger Jahre des vorigen Jahrhunderts kam die erste grundlegende Kritik an dem Kolumnenkonzept auf (Swindale 1990, Purves, Riddle et al. 1992). In den Versuchen, das Kolumnenkonzept zu klären, wurde immer deutlicher, wie vielfältig der Begriff Kolumne verwendet wurde (Horton and Adams 2005). Das Problem scheint dabei in der Verallgemeinerung des Begriffs für eine Vielzahl von periodischen, iterativen Phänomenen zu liegen, die als Kolumnen (alternativ: Modul) angesehen werden, wodurch der Begriff an Trennschärfe verlor.

Man muss drei grundlegende Varianten des Begriffs „Kolumne“ unterscheiden:

- die entwicklungsbiologische Entstehung von Zellsäulen beim Gehirnwachstum entlang von Radialglia, die nicht automatisch gleiche Funktionszusammenhänge haben, da sie durch horizontal wandernde Zellen ergänzt werden (Rakic 1995a),
- die anatomisch feststellbaren Neuronengruppen, die Färbeexperimenten wie dem der vorliegenden Arbeit zugrundeliegen, und
- die funktionellen Kolumnen physiologischer Untersuchungen.

Sicher haben alle drei Varianten etwas miteinander zu tun, sie lassen sich aber nicht einfach gleichsetzen (vgl. Horton und Adams 2005).

Dem modularen Denkmodell für den Neokortex in Anlehnung an Mountcastle (1957a+b) stehen folgende Beobachtungen entgegen:

- Bis vielleicht auf die Kolumnen in den „Barrelfields“ der Nager, die relativ klare Grenzen zu haben scheinen, sind zwischen Kolumnen keine Grenzen festzustellen. Vielmehr haben insbesondere auch die Dendritenbäume weiträumigen Kontakt mit benachbarten Kolumnen.
- Selbst die als Vorbilder geltenden Kolumnen des visuellen Kortex lassen sich nicht in allen Spezies finden, selbst wenn deren Umweltanforderungen und Sinnesleistungen vergleichbar sind. Ein besonders irritierendes Beispiel präsentiert der Totenkopffaffe. Manche Individuen bilden Augendominanzkolumnen aus, andere nicht, irritierender noch, in einem Individuum liegen in manchen Kortexbereichen in V1 Augendominanzkolumnen vor, in anderen Bereichen nicht. Horton kann eine Vielzahl von modularen Strukturen präsentieren, die alle das gleiche Dilemma zeigen: ihre modulare Struktur sperrt sich gegenüber einer generellen Funktionszuordnung und damit einer allgemeinen Erklärung (Horton and Adams 2005). Diese Strukturen bleiben letztlich arbiträr.
- Nicht in allen Bereichen lassen sich modulare oder patchige Strukturen finden (Purves, Riddle et al. 1992). Das ist vor allem eine Frage der Grenzen der Module, die nur ausnahmsweise distinkt, meistens gleitend, fließend von nahezu stufenlos variierenden Funktionssensibilitäten bestimmt sind (Horton and Adams 2005).
- Auch Minikolumnen, die ontogenetischen Kolumnen Rakics (Rakic 1971) oder die Dendritenbündel von Pyramidenzellen (Krieger, Kuner et al. 2007) konnten bisher nicht überzeugend mit einer bestimmten Funktion verbunden werden (Rockland and Ichinohe 2004).
- Welche Funktion die anatomisch-modulare Unterteilung erfüllen soll, wurde bisher nicht überzeugend und allgemein anerkannt aufgestellt. Ohne Funktionsbestimmung bleibt die modulare Struktur eine Denkfigur ohne Wirklichkeitserhellung (Purves, Riddle et al. 1992).

- So bleibt von den Modulen nur mehr das iterative Auftreten von Strukturen, deren modulare *Gestalt* als Begleiterscheinung anderer Prozesse (Wachstum, Zellfindungsprozesse u.ä.) auftritt, aber nicht auftreten muss. Sie sind also für sich genommen funktionslos (Rakic 2008).
- Wenn man vergleichend vorgeht, kann man feststellen, dass die scheinbare Einheitlichkeit des Kolumnenkonzeptes auch in den afferenten Arealen schnell durch ihre spezifischen Unterschiede diversifiziert wird. Read (Read, Winer et al. 2002) arbeitet die Übereinstimmungen und Unterschiede zwischen visuellen und auditorischen Arealen heraus, von denen man annehmen könnte, dass sie als INPUT-Areale die gleiche Organisationsstruktur (Retinotopie, Cochleotopie) aufweisen. Read stellte an Unterschieden fest: Die Verbindungen zum auditorischen Kortex sowohl vom Thalamus als auch vom Kortex sind einzigartig und unterscheiden sich hinsichtlich der INPUT-Schichten und deren Zielzellen sowie den Hemisphärenverbindungen von denen des visuellen Kortex. Physiologische Untersuchungen fanden vielfältige, ineinander verwobene Prozessierungswege bezogen auf kortiko-kortikale Verbindungen und eingebettet in den Isofrequenzband-Gradienten. Die Charakteristik der Einzelneurone wurde gekennzeichnet mit: labil, erfahrungsabhängig und empfänglich für Langzeitreorganisation. Insgesamt seien die Repräsentationen in A1 plastisch, abhängig von subkortikalem und kortikalem INPUT. Ähnlichkeiten fanden sich andererseits in der engen Verbindung und Verarbeitungsstruktur von A1 und dem anterioren auditorischen Areal (AAF) verglichen mit V1 – V2. Funktionale Analysen zeigen eine Ähnlichkeit des visuellen „wo“- und „was“-Pfades mit den auditorischen Verarbeitungswegen der Geräuschlokalisation und –identifikation, obwohl die jeweilige modulare Anordnung modalitätsspezifisch sei. Read deutete damit an, dass die INPUT-Areale nicht nach einheitlichen Mustern organisiert sind, sondern spezifische Anpassungen an die jeweiligen Modalitäten und speziesspezifischen Anforderungen zeigen. Diese sind auf allen Ebenen zu finden: zytologisch und histologisch, organisatorisch und funktionell.

Horton et al. weisen darauf hin, dass es leicht ist, anatomische, kolumnäre Strukturen im Kortex zu finden, dass aber deren Korrelation mit bestimmten Funktionen ein wesentlich schwierigeres Vorhaben sei (Horton and Adams 2005). Sie führen zwei Phänomene an, die letztlich allen Kolumnen-Varianten eigen sind:

- Zellen, die Afferenzen bzw. rezeptive Feldeigenschaften und/oder Ziele bzw. Aufgaben⁷⁸ teilen, liegen oft nah beieinander.
- Zelluläre Verbindungen innerhalb und zwischen Arealen sind gewöhnlich periodisch.

Die patchigen Strukturen im Motorkortex weisen zweifellos Funktionszusammenhänge auf (Huntley and Jones 1991), sind in ihrer Form jedoch nicht kolumnär-modular, sondern allenfalls iterativ in unterschiedlicher Größe und asymmetrischer Verteilung (s. Kapitel 3.4.1). Funktionelle Unterteilungen sind aber allen Lebensprozessen inhärent und Kompartimentierungen essentiell, aber es erscheint berechtigt, die Funktion bestimmter Formen, wie die der Kolumne als Grundstruktur des Neokortex, in Zweifel zu ziehen.

⁷⁸ Ergänzung durch KvW für Motorkortex

Vielleicht kann eine konstruktive Konsequenz darin bestehen, nicht die Kolumne (für was auch immer: Muskel, Kraft, Beschleunigung, Richtung, ...) als existent erweisen zu wollen, sondern wie sich in dem Gebrauch des Begriffes Modul / Kolumne für vielfältige Erscheinungen andeutet, die Vielfalt spezifischer Konnektivität im Gehirn aufzuzeigen.

Rockland sieht eine Parallele in der Veränderung des Begriffs „Gen“ und plädiert für eine weniger strenge Definition von „Kolumne“, die sich nicht an anatomischen Grenzen und Funktionsgleichheit orientiert (Rockland 2010).

Auch aus den Arbeiten von Georgopoulos kann ein anderes Verständnis eines Moduls abgeleitet werden. Seine Interpretation richtungssensibler Neuronenpopulationen lässt diese als Population den Richtungsvektor recht zuverlässig bestimmen, obwohl sie in ihrer individuellen Sensibilität ein breites Spektrum aufweisen und sich untereinander durch gleitende Richtungssensibilitäten unterscheiden ((Georgopoulos 1991) s.a. „best point“ (Landgren, Phillips et al. 1962b)). Damit ist aber eine an der Funktion der beteiligten Neurone orientierte neue Definition eines Moduls generiert, die weder durch räumlich klare Grenzen noch durch funktionelle Homogenität geprägt ist, sondern allein durch die Funktion einer Neuronenpopulation bestimmt wird. Für deren Aufgabenerfüllung sind ihre intrinsischen Verbindungen essentiell. Folgerichtig lassen nichtinvasive Studien (fMRI, TMS etc.) diese Funktionen sichtbar werden, doch ihr ebenso klar abgrenzbares anatomisches Pendant fehlt.

Was bleibt für die Betrachtung des Motorkortex? Der Patch ist eine räumliche Struktur mit vertikaler Ausrichtung von unregelmäßiger Gestalt, also Ausdehnung und Tiefe. Er ist eine anatomische Erscheinungsform des intrinsischen Netzwerkes und damit aller Wahrscheinlichkeit nach Funktionsträger. Letzterem Aspekt soll im nächsten Abschnitt nachgegangen werden, bevor die Struktur näher betrachtet wird.

4.5. Skizze: Suche nach einer Motorkortexkonzeption

Der primäre Motorkortex hat eine sehr wichtige Rolle in der Steuerung willkürlicher Bewegungen, insbesondere der Hände. Den intrinsischen Verbindungen im primären Motorkortex werden dabei wichtige Aufgaben zugewiesen in Hinblick auf

- die Koordinierung und Integration der sensorischen Eingänge und der planenden Vorgaben anderer Areale,
- die Mediation inhibitorischer und unterschwelliger Effekte sowie
- die Anpassungen nach Läsionen und
- Lernprozesse.

Der Klärungsprozess, welche Funktionen jedoch im Motorkortex kodiert werden, ist noch nicht zuende und sein Verlauf spiegelt die Komplexität des Sachverhaltes wie die Interpretationsschwierigkeiten wider.

Die Konzeptionsentwicklung

Zwei grundlegende Ansätze kamen zum Tragen. Dem Somatotopik-Modell angelehnt war die Vorstellung, dass die Neurone des Motorkortex Muskeln und Gelenke repräsentieren, dementsprechend wurden die Neurone auf Kraft- oder Gelenktorsions-Sensibilität untersucht (Evarts 1968, Smith, Hepp-Reymond et al. 1975, Asanuma 1975a, Kwan, MacKay et al. 1978, Cheney and Fetz 1980). Die Grenzen des Somatotopiekonzeptes und die Einbindung einzelner M1-Neurone in ein Netz von Motoneuronen (Cheney and Fetz 1985) ließen die Fragen nach den Koordinierungsmechanismen drängender werden. Dadurch kam das Ziel dieser Verarbeitung wieder in den Blick und es wurden zunehmend abstraktere Bewegungsaspekte den M1-Neuronen zugeordnet (wie z.B. Richtung, Geschwindigkeit, Beschleunigung). So wurden den Körper- bzw. Muskelrepräsentationsmodellen die Bewegungskodierungsmodelle zur Seite gestellt. Exemplarisch mögen die Forschungen um Georgopoulos gelten (Georgopoulos, Schwartz et al. 1986), der zudem aufzeigte, wie die relativ unspezifischen Einzelneurone als Population recht präzise Bewegungen steuern könnten und damit den Populationszusammenhang konkret ansprach. Diese Forschungen entwickelten in Anlehnung an die Vorstellung einer allgemeinen Kolumnenstruktur ein Modell für Richtung im primären Motorkortex (Amirikian and Georgopoulos 2003, Georgopoulos, Merchant et al. 2007a).

Die Diskutanten dieser Konzepte hatten mit den Schwierigkeiten zu kämpfen, dass kein Parameter oder deren Kombinationen, auch keine Kombinationen muskel- und verhaltensbezogener Untersuchungen zu einem befriedigenden, d.h. die experimentellen Befunde wie die motorischen Leistungen stimmig erklärenden Verstehensrahmen führten (Kakei, Hoffman et al. 1999, Moran and Schwartz 1999, Hatsopoulos 2005, Sergio, Hamel-Paquet et al. 2005). Die Interpretationen waren in der Regel nicht zwingend und ließen sowohl muskel- wie bewegungsbezogene Auswertungen zu (Mussa-Ivaldi 1988). Scott (Scott 2003) konnte andererseits zeigen, dass der primäre Motorkortex viele Parameter verarbeitet und dies für die Steuerung der α -Motoneurone nötig sei.

Auch sind die Bewegungsparameter der M1-Neurone oft eng miteinander korreliert (Stark, Drori 2009), insbesondere in bestimmten Versuchsansätzen (z.B. center-out tasks) und zeigten zudem keine invarianten Spezifikationen hinsichtlich ihrer kodierenden Eigenschaften weder räumlicher oder zeitlicher noch verhaltens- oder aufgabenbezogener Kategorien (Hatsopoulos 2010).

Auch die Kontextabhängigkeit und die Einbeziehung von Vorerfahrungen in die Kodierung von Neuronen im prämotorischen und primären Motorkortex widersprachen z.B. einer modularen Richtungskodierung im Motorkortex wie sie Georgopoulos und Amirikian vortrugen (Ben-Shaul, Drori et al. 2003a, Ben-Shaul, Stark et al. 2003b, Rickert, Riehle et al. 2009).

Versuche, diese Situation konstruktiv zu lösen, haben zu drei grundlegenden Denkansätzen für Modelle geführt:

- die Eigenart eines Areals möglichst vollständig auch im Detail zu erfassen (Beispiel: „Fingerabdrücke“ von Arealen (Passingham)),
- die Vielfalt der sensorischen Eingänge, als die die Aktivität im Motorkortex prägenden Parameter zusammen zu sehen (Beispiel: Muskelsynergien (Ting)) oder

- die Feedback-Netzwerke in gleicher Detailgenauigkeit zu ermitteln (Beispiel: Feedbackmodell (Scott)).

Beispielhaft werden einige Modelle im Anhang vorgestellt⁷⁹.

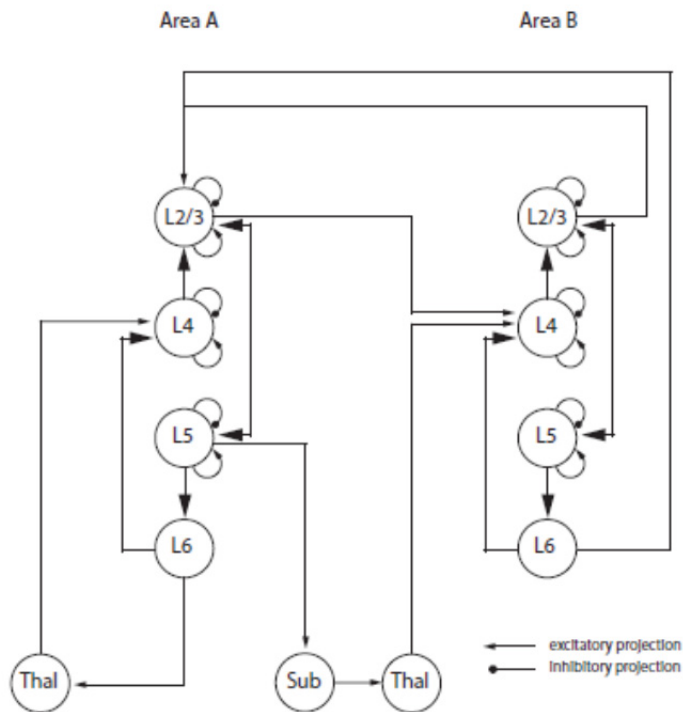


Abb. 91: Canonical circuit

Repräsentation der Hauptverbindungen im "canonical microcircuit" von Douglas und Martin. Exzitatorische Verbindungen sind durch Pfeile, inhibitorische mit runden Enden gekennzeichnet. Neurone von verschiedenen kortikalen Schichten oder Gehirnstrukturen sind als Kreise wiedergegeben. „L“ kennzeichnet die kortikale Schicht, in der der Zellkörper liegt, „Thal“ den Thalamus und „Sub“ andere subkortikale Strukturen. Vgl. Abb.9. Aus: Costa, Martin 2010,

Je detaillierter man jedoch Genom, Proteom, Rezeptoren, Verbindungsstrukturen etc. der Neurone aufklärte, um so stärker stieg und steigt die Diversität der Neurone und ihrer Eigenheiten. Das wirft die Frage auf, ob all diese Verschiedenheiten auch Funktionen erfüllen oder ob es demgegenüber einfache Regeln und verallgemeinerbare Strukturierungen gibt.

Deshalb unternimmt eine Reihe von Forschern Anstrengungen, die eigenen experimentellen Befunde und theoretischen Überlegungen in die Simulation solcher Netzwerkmodelle einzubringen und damit die Lücke zwischen anatomischen und physiologischen Daten zu überwinden.

Zwei unterschiedliche Ansätze liegen diesen Modellierungsbemühungen zugrunde:

- der eine Forschungsansatz exploriert die Vielfalt in den Unterschieden von Rezeptoren, Synapsen, Zellen etc. und versucht diese in ihren Modellierungsversuchen zu berücksichtigen (Nelson 2002),
- während der andere Ansatz nach grundlegenden, vielleicht verallgemeinerbaren Regeln und Strukturen des Neokortex⁸⁰ sucht, die durch Exzitation und Inhibition geregelt werden (Abb. 91) und Kap. 1.3.). Der Diversität auf zytologischer Ebene sprechen sie funktionell keine oder nur eine untergeordnete Bedeutung zu (Douglas, Martin et al. 1989, Grillner 2003, Douglas and Martin 2004, Grillner 2006, Douglas and Martin 2007, Van Hooser 2007, Binzegger, Douglas et al. 2009).

⁷⁹ S. Modelle im Anhang 79

⁸⁰ Z.B. auch der „canonical circuit“ von Martin, Douglas (Douglas and Martin 1989, 2004; Binzegger et al 2009), den sie am visuellen System entwickelten und anhand experimenteller, auch anatomischer Daten (Binzegger) ausdifferenzieren und Varianten für verschiedene Areale zu entwickeln hoffen (s. Kap. 1.3.).

Beide Sichtweisen haben ihre Berechtigung. Einerseits haben sich bisher alle Versuche als unzutreffend herausgestellt, der Vielfalt organischer Strukturen keine Bedeutung beizumessen⁸¹. Die Diversität zytologischer Elemente als zufällig anzusehen, ist von daher mit Sicherheit ein vorschnelles, unzutreffendes Urteil. Andererseits hat das Bemühen, den komplexen und komplizierten Zusammenhängen Verschaltungs- und Verarbeitungsmuster zu entlocken, schon immer dazu beigetragen, das Verstehen voranzutreiben, auch oder gerade dadurch, dass sich die Modelle als zu begrenzt erwiesen. Kevan Martin z.B., der den „canonical circuit“ für V1 mit entwickelt hat, sieht die Diversität sehr deutlich⁸².

4.6. Feuerraten der Neurone und Populationsantworten

Hintergrund für dieses Dilemma von Uniformität und Diversität sind die unterschiedlichen Antworten auf die beiden grundlegenden Fragen an Nervennetze:

- Was bilden sie von der äußeren Wirklichkeit ab, welche Reize werden erkannt und mit Neuronenerregung beantwortet?
- Wie verarbeiten bzw. kommunizieren sie diese Information intern für die Überlebensstrategie der Organismen.

Eine grundlegende These war bisher, dass die entscheidende Aktivität des Gehirns in den Feuerraten der Neurone zu sehen ist, die mit bestimmten Parametern des Körpers oder der externen Welt korreliert werden (Neuronentheorie). Die prinzipielle Frage neuronaler Kodierung ist, wie sich in Bau und Funktionsweise des Gehirns die physikalische Welt in ihrer Struktur und Wirkungsweise widerspiegelt. Als Beispiel sei auf die zentralnervöse Verarbeitung beim binauralen Hören verwiesen. Dabei findet sich die Laufzeitdifferenz des Schalls zwischen beiden Ohren in der anatomischen Struktur der Axonlängen wieder, die zum Detektor der Laufzeitdifferenz im ZNS führen. Deshalb korrelieren die Neurowissenschaftler detektierbare Reize der äußeren Wirklichkeit mit den Feuerraten der diese Reize registrierenden Sinneszellen und den verarbeitenden Neuronen miteinander und können die erwarteten Entsprechungen feststellen (z.B. dass die Intensität der Reize durch die Feuerraten wiedergegeben werden).

Bei wiederholten Untersuchungen entdeckte man jedoch, dass die Feuerraten der Neurone keine reproduzierbaren Ergebnisse zu den jeweils gleichen externen Reizen lieferten. Selbst bei genauer Kenntnis der Zellensembles und ihrer Funktion (Beispiel Pilzkörper bei Fliegen) wurde eine bislang ungeklärte Varianz festgestellt⁸³ (Rabinovich, Huerta et al. 2008).

Es zeigt sich, dass die Feuerraten von Neuronen ohne die Beziehungsstruktur (Kontext) nicht aussagekräftig sind. So ergab der Vergleich zweier experimenteller Phasen (Aktivität vor und während einer Stimulierung durch ein stehendes Balkenmuster) zwar Gleichheit

⁸¹ Am fulminantesten in der Genetik, in der die nicht Proteine kodierenden DNA-Sequenzen als „Müll“ bezeichnet wurden und sich nun als Steuerungselemente herausstellen.

⁸² Vortrag am Max-Planck-Institute for Brain Research am 17.10.2012 „What are all these wires for? The enigma of neocortical circuits“.

⁸³ Vortrag von Gilles Laurent im Doktorandenworkshop des „Max-Planck-Institute of brain research“ am 6.11.2012 zum Thema: „Neural coding: what does it mean?“ (Teil der Reihe: Modern Topics in Neuroscience)

der Feuerraten, aber erhebliche Unterschiede in den Beziehungsstrukturen der Neurone, die an der Korrelation benachbarter und entfernter Neurone, mit und ohne gleicher Orientierungspräferenz abgelesen werden konnte⁸⁴.

Die Verarbeitungsmechanismen des Gehirns scheinen nach eigenen, internen Regeln abzulaufen (Holmberg, Gelbart et al. 2006)⁸⁵. Das Problem ist, dass die Muster der äußeren Welt keine Vorlagen für das Verständnis dieser internen Algorithmen zu liefern scheinen, noch dass sie einfach durch Intuition zu erschließen wären. Allem Anschein unterliegen die Verarbeitungsmechanismen eigenen Gesetzmäßigkeiten mit unbekannten Parametern und Algorithmen.

Die Frage nach einer Motorkortexkonzeption ist deshalb auf der Ebene von Neuronen und ihren Kodierungsmustern nicht mehr zu beantworten, weshalb alle neueren Ansätze Bezug zu Populationsaspekten nehmen. Die Georgopoulos-Gruppe hat dafür ein erstes, konkretes Denkmodell für die räumlich synergistisch interagierenden Motoneurone vorgegeben. Doch Georgopoulos vertritt ein parameterbezogenes Kodierungsmodell, denn die Populationsantwort spiegelt als Summenvektor die Richtungssensibilität der einzelnen Neurone wider. Die Populationsantwort ist eine rechnerische Ableitung (Lukashin and Georgopoulos 1993, Lukashin, Amirikian et al. 1996).

Demgegenüber verdeutlichen Churchland et al. (Churchland, Santhanam et al. 2006, Churchland, Cunningham et al. 2012), dass die Populationsantwort eine andere Dimension⁸⁶ abbildet und nicht wie selbstverständlich in direkter Weise von den Einzelneuronen abgeleitet werden kann (Poliakov and Schieber 1999). Es gibt eine umfangreiche Diskussion der Informationsflüsse von Neuronenpopulationen im Motorkortex (Zhang, Riehle et al. 1997, Riehle, Grün et al. 1997a, Riehle, Kornblum et al. 1997b, Grammont and Riehle 1999, Maynard, Hatsopoulos et al. 1999, Sanes and Donoghue 2000, Schieber 2001, Ghosh, Putrino et al. 2009, Rickert, Riehle et al. 2009, Gerhard, Haslinger et al. 2011)⁸⁷, die bestätigen, dass es über die Entladungsraten hinaus Informationsebenen der Populationen gibt, die sich z.B. über Synchronisationen messen lassen. Entscheidendes Ziel ist, die Informationsprozessierungs-Prozesse der Neuronenensemble verstehen zu lernen (Chklovskii, Schikorski et al. 2002, Zilles and Amunts 2012)⁸⁸. Ihre Funktionszusammen-

⁸⁴ mdl. Mitteilung von Katharina Schmitz, AG Galuske/MPIH, Auswertung der Spiking-Muster von intrakortikalen Elektroden-(multinunit)-Ableitungen im visuellen Kortex an Katzen. Einen Überblick über Kodierungen geben Gerstner et al. 1997.

⁸⁵ Z.B. sind die Algorithmen des Gehirn für Sprachverstehen unbekannt, aber für Chochleaimplantate von besonderer Wichtigkeit. (Holmberg, M 2006)

⁸⁶ Andere analysieren Populationsensemble und trafen auf eine Diversität verschiedener Neurone, die weder bewegungs- noch muskelbezogen interpretiert werden konnten, auch nicht auf der Populationsebene. Sie zeigten eine verhaltensbezogene Diversität (der verschiedenen Neurone), die zwar noch nicht verstanden, die aber die output-Variation des Netzwerkes erhöhen und sein Verhaltens-Repertoire erhöhen und flexibel halten könnten.

⁸⁷ Gerhard, Haslinger et al. (2011) stellen allgemein Analysewerkzeuge für die Analyse von Populationsaktivitäten vor, beziehen sich aber auf Daten aus dem visuellen Kortex in ihrer Anwendung.

⁸⁸ Die Frage ist immer die, ob es einfache Regeln für die Entstehung und Arbeitsweise des Gehirns gibt, oder ob die Vielfalt der einzelnen Elemente und die Dynamik ihrer Interaktionen nach komplexen nichtlinearen

hänge sind komplexer und nur bedingt lokal abhängig, d.h. an keine Form gebunden⁸⁹ (Maynard, Hatsopoulos et al. 1999, Narayanan, Kimchi et al. 2005) (vgl. Anhang 79, Motorkortexmodelle, letzter Absatz).

Dass die direkte Betrachtung der Informationsprozessierung auf Populationsebene unerwartete Erkenntnisse bringen kann, zeigen die neuesten Veröffentlichungen von Churchland aus der Shenoy-Gruppe. Die Grundidee stellt Populationskodierungen in den Zusammenhang ihrer evolutiven Entstehung, weshalb lineare Greifbewegungen mit rhythmischen Schwimmbewegungen von Egel und gleichmäßigen Laufbewegungen beim Affen verglichen werden (Churchland et al. 2012). Aus ihren bisherigen Untersuchungen wiesen sie der Bewegung vorbereitenden Phase eine besondere Bedeutung für die Koordination der Neuronensembles zu, messbar an der Reaktionsgeschwindigkeit. Und wie oben schon erwähnt, sehen sie in den Feuerraten einzelner Neurone eine Dynamik unterlegt, die sich in der Populationsantwort zeige, nicht aber in dem eher „akzidentiellen Tuning“ der Einzelzellen (Grillner 2003, Grillner 2006).

Für Graziano hat diese Arbeitsgruppe damit die Tür zu einer neuen, direkten Betrachtung der Netzwerke und ihrer Funktionszusammenhänge geöffnet (Graziano 2011).

Am Beispiel des Motorkortex treten diese Kontroversen besonders deshalb hervor, weil die entworfenen Modelle immer einem harten Wirklichkeitstest unterworfen werden. Ein visuelles Erkennungsmuster muss die Wirklichkeit hinreichend abbilden, Verhalten muss präzise in realen Bezügen der Wirklichkeit sein, denn es muss das Überleben sichern. Das schien wohl auch das entscheidende Problem bei der Entdeckung der weitläufigen intrinsischen Verbindungen zu sein, dass funktionelle Präzision und anatomische Distribution nicht zusammen zu passen schienen (da Costa et al. 2010). Gleichwohl zeigen die vorhandenen distributiven Netzwerke jedenfalls eben jene funktionellen Leistungen mit einer erstaunlichen zeitlichen und räumlichen Exaktheit. Im Rahmen dieser Arbeit soll der strukturelle (anatomische) Teil dieses Problems näher betrachtet werden.

Algorithmen verlaufen. Zilles und Amunts (2012) weisen auf einige Grundprinzipien bei der Entstehung des Gehirns hin.

⁸⁹Schieber führt als Beleg die Studie von Maynard (1999) an, in der die Entladungsmuster zweier Zellen um so korrelierter waren, je mehr sie die gleiche Richtungsorientierung teilten. Die Stärke der Korrelation war nicht distanzabhängig (im Bereich von 2 mm). "A second type of long-range correlation has been demonstrated by examining the trial-by-trial variation in the discharge of monkey M1 neurons averaged over 600 ms during a reaching task (Maynard et al. 1999). The trial-by-trial variation in average discharge rate of two neurons was more likely to be correlated if the two neurons had similar preferred directions, suggesting that functionally similar neurons receive shared inputs that fluctuated from trial to trial. The strength of such correlations did not depend on the horizontal distance between the two neurons, however. Although interneuronal separations of only up to 2 mm were examined, that the correlation strength was independent of separation distance suggests that this type of correlation extends beyond 2 mm." (Schieber 2001) S.2135

4.7. Ineinander verwobene Netzwerke

Die in der Einleitung dargestellte veränderte Sicht auf den Motorkortex und die kontrovers geführten Diskussionen um Kolumnen und Kodierungsmuster haben vor allem deutlich gemacht, dass das Problem in der Zuordnung von anatomischen und funktionellen Daten liegt. Am Beispiel des Motorkortex⁹⁰ kann bedacht werden, dass diese Netzwerke hochkomplexe Neuronenassoziationen sind, deren einzelne Neurone

- sich morphologisch und im Spiking-Muster (z.B. Ratte (Cho, Segawa et al. 2004))⁹¹ unterscheiden, die
- in Abhängigkeit ihres Kontextes (Schicht) vertikal differenzierte erregende (Ratte (Aroniadou and Keller 1993, Keller 1993c, Weiss and Keller 1994); Mensch (Munchau, Bloem et al. 2002) und hemmende Beziehungen untereinander aufnehmen (z.B. Maus, (Hooks, Hires et al. 2011), besonders prominent die Projektionen von Schicht II/III nach Schicht V und
- zu anderen Neuronengruppen in horizontaler Richtung vielfältige wechselseitige Verbindungen haben (z.B. Makake, (Yamashita and Arikuni 2001),
- die wiederum von der Rezeptorverteilung auf jeder Zelle entscheidend geprägt werden (z.B. Mensch (Geyer, Ledberg et al. 1996)); Katze (Porter, Matin et al. 2000) und
- in Feedback-Netzwerken organisiert sind (Galuske, Schmidt et al. 2002, Galuske 2006)⁹².

Alle Ergebnisse sprechen dafür, dass es sich nicht um unidirektionale, direkte wechselseitige oder oligokonnektive Beziehungen handelt, sondern um ein sehr komplexes, partizipierendes Netzwerk, dessen Kommunikation die Basis für die Reaktionsgeschwindigkeit und Anpassungsfähigkeit, Bewegungsvielfalt und -genauigkeit des Motorkortex sowie seine Fähigkeiten für Lernen und Rehabilitation nach Läsionen bilden dürfte. Dazu sollen die vorgetragenen Ergebnisse als Veranschaulichung dienen.

Unter dem Gesichtspunkt, den interpretierenden Blick nicht zu früh festzulegen (Lehrer 2010), soll eine alternative Deutung der patchigen Erscheinung des vorgestellten intrinsischen Netzwerkes gedacht werden. Der Farbkristall färbt ein Netzwerk von Neuronen wie beschrieben an. Die naheliegende Deutung dieser Patches, angelehnt an das Kolumnenvorbild, sieht in ihnen eine vertikale Funktionssäule. Wie oben dargelegt, hat diese Gestalt ihren Erklärungswert für die Funktion bisher nicht belegen können. Deshalb soll mit „fremdem“ Blick die Patchstruktur betrachtet werden.

Die Abb. 72, 92 und 93 geben die Patchzeichnungen in M1 und im prämotorischen Kortex wieder. Sie sind davon gekennzeichnet, dass die Patches in den übereinanderliegenden Schnitten vielfach an vergleichbaren Orten anzutreffen sind, jedoch oft auch gegeneinander verschoben sind und sich mit Nachbarpatches überlagern.

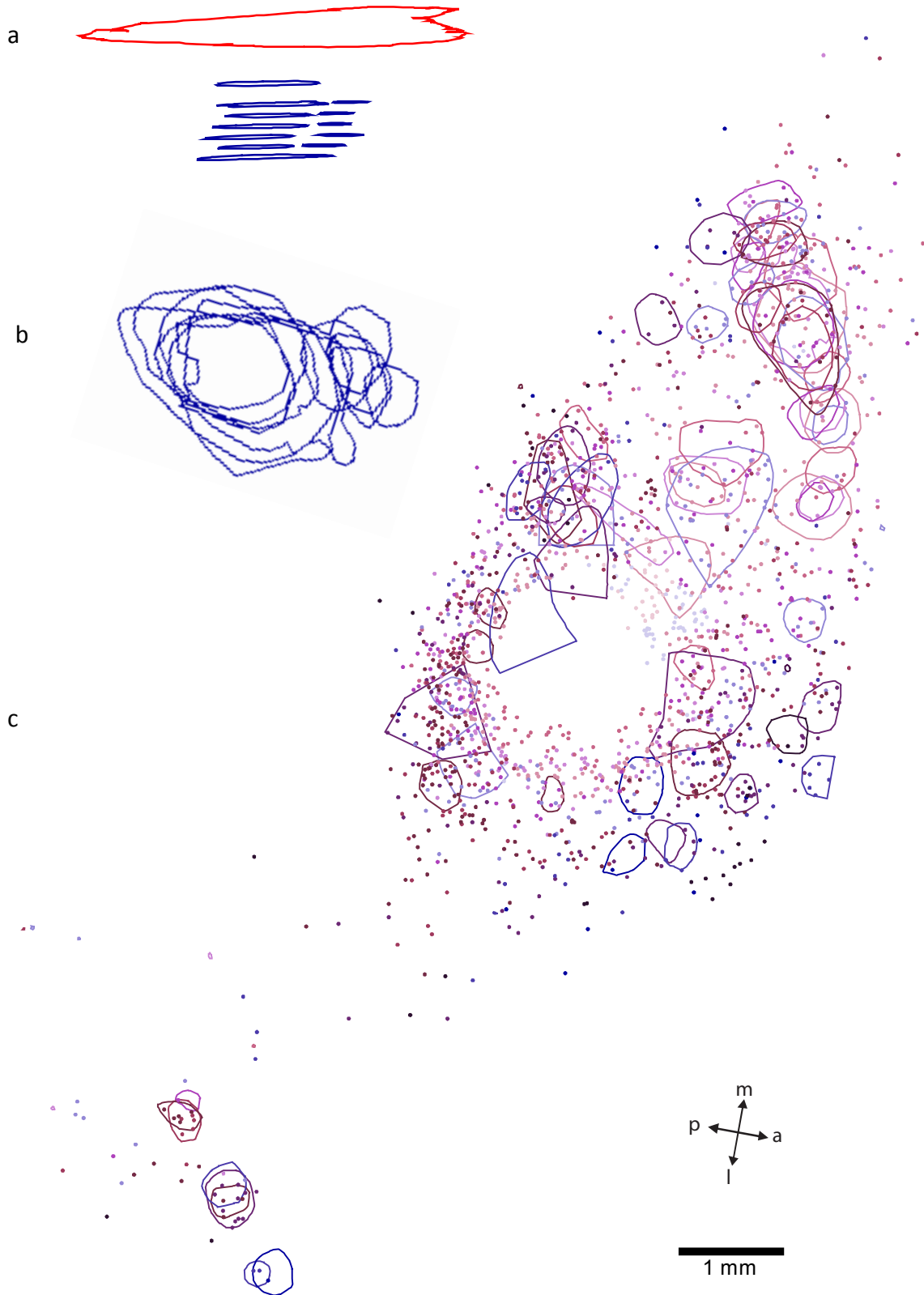
⁹⁰ Die Ausführungen sind so gehalten, dass die artspezifischen Unterschiede keine Bedeutung haben.

⁹¹ (classical, star and other modified pyramidal neurons) + (regular-spiking (RS), intrinsic bursting (IB) and irregular-spiking (IS)

⁹² Analog zu denen, die Galuske et al für den visuellen Kortex detektierten und die weitreichende Bedeutung für die Theorie des Sehens haben (liquid-state-Modell kontra Synthese-Modell): Bedeutung von feedback-Verbindungen für Reizverarbeitung, Strukturveränderungen (Lernen) und zeitliche Taktung.

Abb. 92: Patchzeichnungen (P4)

- a) Geteilter Patch in Seitenansicht,
- b) in Aufsicht, lagegerecht zu a).
- c) Zeichnung aller Patche (P4)



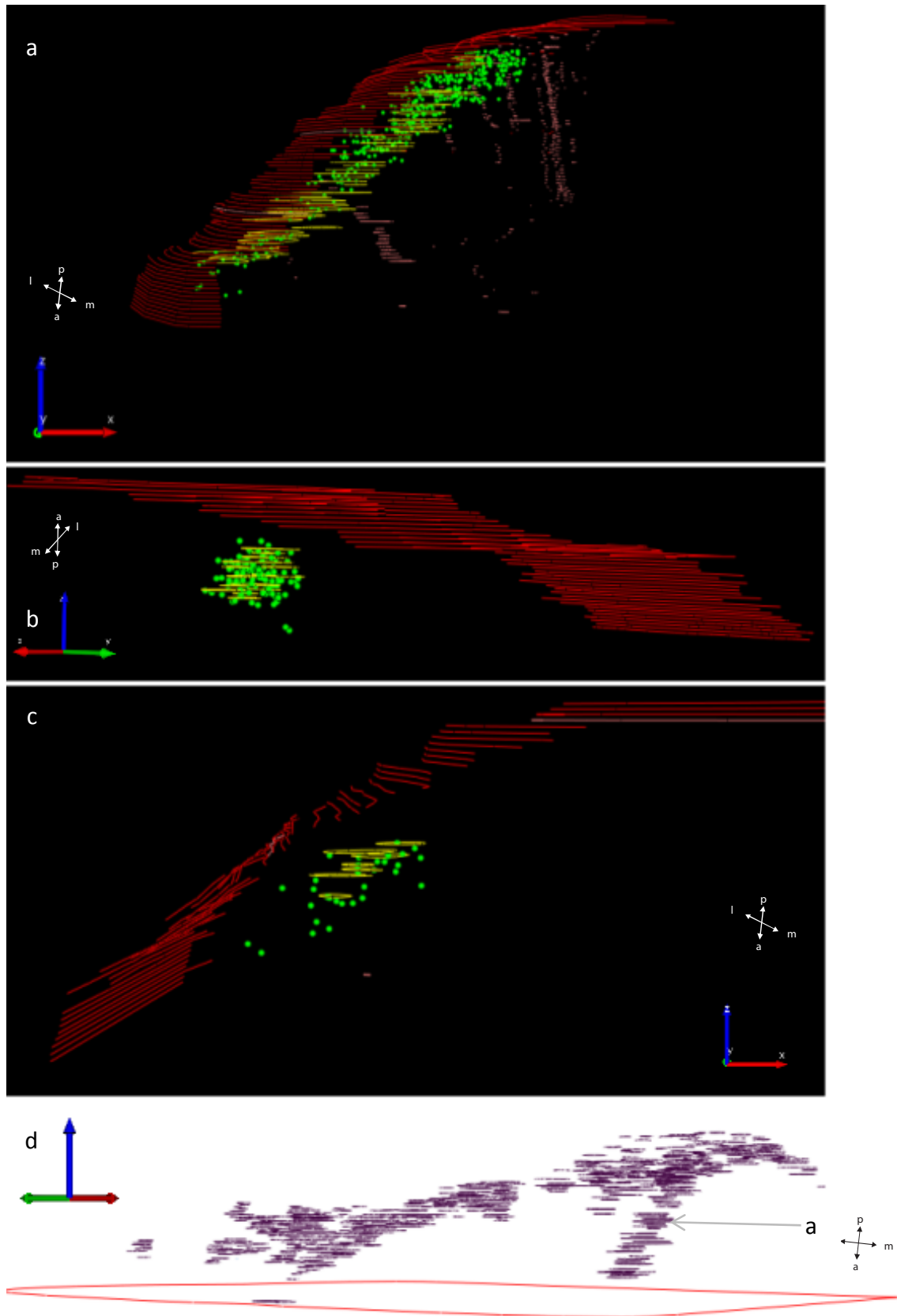


Abb. 93: Räumliches Bild vom Patch-Netzwerk

a) Patchwulst entlang eines Kortexhanges. Die roten Linien sind die Schnittkonturen, die grünen Punkte die Zellmarker, die gelben Linien die Patchkonturen und die fleischfarbenen Striche Blutgefäße, die für die lagegerechte Montage der Zeichnungen genutzt werden. Die Lage der Patches im Gewebe ist in Bild d) eingetragen. b) und c) Einzelpatches in ihrer Gewebelage. Elemente wie in a). Orientierungspfeile xyz/Lagekreuz Kennzeichnung der Lage im Gewebe. d) Patchzeichnungen in Seitenansicht. Rote Linie Kontur des untersten Schnitts. Ort der Patches in Bild a) durch Pfeil gekennzeichnet.

Das Bild des schon in Kapitel 3.4.1. vorgestellten Auswahlpatches (s. Abb. 92) gibt die einzelnen Patchzeichnungen in den einzelnen Schnitten wieder, die unabhängig voneinander entstanden und erst im Nachhinein zu diesem Patch zusammengefügt wurden. Die obere und untere Patchzeichnung enthält einen Patch, während die mittleren Schnitte an dieser Stelle zwei Patches zeigen. Gewiss kann hier das Argument vorgebracht werden, dass der beurteilende Blick des Untersuchenden Grenzen sah, die nicht existieren. Wenn wir jedoch davon ausgehen, dass dieser Blick das Maß für die Patchfestlegung war (s. Kapitel 2.3.3.), so müssen wir registrieren, dass die Patches in der Tiefe keine einheitliche, gleichförmige, klar abgrenzbare Gestalt haben.

Folgendes sollte weiter bedacht werden:

- Es spricht für einen Zusammenhang der vertikalen Elemente, dass die Varianz der Patchflächen innerhalb eines vertikalen Patches um die Hälfte geringer ist als die zwischen den Patches. Der hier abgebildete Patch zeigt in seiner Gesamtheit jedoch eine Interpatch-Varianz, während die beiden einzelnen Patches eine Intrapatch-Varianz zeigen (s.Kap. 3.4.1)
- Zellen in Patches stellen weniger als die Hälfte der registrierten Zellen und die Frage ist, in welcher Beziehungen Patches und „freie“ Zellen zueinander stehen.
- Der Farbkristall schafft ein großes Kontaktvolumen im Gewebe zu vielen Neuronen (oder deren Ausläufern, Dendriten und Axone), die nebeneinander vorliegen und nicht unbedingt eine Verbindung miteinander haben müssen. Das könnte zur Folge haben, dass die Patches allein dadurch entstehen, dass zwei Kontaktstellen am Farbkristall zu benachbarten Neuronen oder Terminalfeldern in einem Patch führen, ohne dass zwischen ihnen ein Funktionszusammenhang bestehen müsste. Man kann in der vorgefundenen Patch-Struktur ein ineinander verwobenes Gebilde von Neuronennetzwerken sehen, deren übereinander gelagerte „Knotenpunkte“ die patchige Erscheinung hervorrufen, ohne notwendigerweise vertikale Verbindungsstrukturen zu repräsentieren. Die patchige Natur des gefärbten Gewebes würde durch die Untersuchungsmethode hervorgerufen. Die horizontalen Verbindungen sind durch die Methode nachweislich sichtbar geworden, die vertikalen müssen erschlossen werden. Die Erscheinung der Patches muss in dieser Sicht nicht die Verbindungsstruktur des Netzwerkes in Form von vertikalen Funktionssäulen (vgl. Kolumnendiskussion Kap. 4.4) anzeigen. Gleichwohl sind vertikale Strukturen im Netzwerk ausgebildet, wie die lokalisationspezifische Boutondichtevertelung zwischen den Schichten andeuten (s.o. Kap. 3.4.4) und die patchigen Axonterminalien belegen. Die klaren Funktionszuordnungen, wie sie bei fMRI und TMS-Untersuchungen zutage treten, können jedoch nicht eine ebenso klare anatomische Strukturierung voraussetzen.

Das Bild eines unübersichtlich strukturierten, vielfältig untergliederten und strukturell distributiven Gehirns, dessen Algorithmen sich einem schnellen Zugriff entziehen, das gleichwohl präzise messbare Funktionen erfüllt, ruft in der Tat Irritationen für den an klare Struktur-Funktions-Beziehungen gewöhnten Biologen hervor.

4.8. Die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen

Mit der Entdeckung des weitläufigen intrinsischen Netzwerkes ist auch das Informationsprozessierungskonzept des modularen Gehirnmodells fragwürdig geworden. Es besteht darin, dass die Information vor allem in den vertikalen Säulen und in den nicht-patchigen horizontalen Verbindungen gleicher oder ähnlicher Modalität verarbeitet wird. Den horizontalen, weitreichenden patchigen Verbindungen wurde eine geringe Bedeutung beigegeben, weil das Signal mit der Entfernung schwächer werde. Bei genauer Untersuchung und trotz aller kontroversen Ergebnisse kann aber angeführt werden, dass ein erheblicher Input über die extrakolumnären Kontakte geschieht und andererseits die Qualität der Signale sehr verlässlich (reliabel) und präzise im Millisekundenbereich liegt (Quantifizierung s. (Boucsein, Nawrot et al. 2011)). Damit werden die langreichweitigen horizontalen Verbindungen in ihrer Bedeutung neu wahrgenommen und es wird begonnen, sie in die Informationsprozessierungsmodelle einzubeziehen und angemessen zu berücksichtigen.

Dabei sind die intrinsischen Verbindungen keine akzidentiellen Zusätze, sondern gehören zum Grundelement des Gehirns. Diese intrinsischen Netzwerke entstehen ontogenetisch früh und reifen erfahrungsabhängig aus. Erfahrungen sind für sie entscheidend, denn sie degenerieren unter Erfahrungsentzug (Luhmann, Martinez Millan et al. 1986, Callaway and Katz 1991). Andererseits erfahren sie im Motorkortex nach der Geburt noch einen erheblichen Umbau, wobei sich z.B. die Entwicklung der Händigkeit vermutlich in der Dichte der intrinsischen Verbindungen niederschlägt (s.o.) (Amunts, Istomin et al. 1995, Amunts, Schmidt-Passos et al. 1997b, Hammond 2002).

Damit wird die grundlegende Funktion der Informationsintegration angesprochen, die diese Netzwerke ermöglichen und garantieren.

Diese Aufwertung hat auch ein anderer, wenn auch funktioneller Bereich erfahren: die Inhibition, deren Bedeutung für die Begrenzung der Exzitation und Regelung von Neuronenpopulationsgrößen immer gewichtiger gesehen wird (Haider, Duque et al. 2006, Haider and al. 2012). Auch spielen die intrinsischen Verbindungen eine entscheidende Rolle, weil sie durch ihre weitreichenden Kontakte die Veränderungen der Balance von Exzitation und Inhibition tragen (Levitt and Lund 2002, Lund 2002, Nelson 2002, Angelucci, Levitt et al. 2002b)

Das intrinsische Netzwerk ist kein additives Element der Gehirnnachitektur, sondern ein integriertes und integrierendes System. Der Hinweis, dass die Reizsituationen in den Laborversuchen und die Stimuli in realen Lebenssituationen möglicherweise zu völlig anderen neuronalen Antworten führen, sind ein Fingerzeig auf das ungelöste Problem, die Algorithmen des Motorkortex (Gehirns) zu verstehen. (Für den visuellen Kortex s.a. (DeAngelis, Ghose et al. 1999, Basole, White et al. 2003, Basole, Kreft-Kerekes et al. 2006, Yen, Baker et al. 2007)).

Es kann also festgehalten werden, dass es iterative und patchige Strukturen gibt, die als Orte besonderer Verbindungsdichten angesehen werden können und funktionelle Bedeutung haben, die aber nicht deckungsgleich mit Funktionen sind, ihnen nicht „Gestalt“ geben. Ihre Entstehung war evolutiv bedeutsam, denn sie werden ontogenetisch früh ange-

legt. Ihr Strukturierungsprinzip ist unter verbindungsökonomischen Gesichtspunkten analysiert worden.

„Ein sehr wichtiger Grundsatz kortikaler Netze („circuits“) ist der Nutzen Verbindungen zu sparen, d.h. die Länge der Axone zu reduzieren, die die Neurone interkonnektieren (Mead 1990, Mitchison 1992). Jeder Kubikmillimeter weiße Substanz enthält 9 m Axone, die der grauen Substanz 3 km. Der Raumbedarf würde sich erhöhen, wenn jedes Neuron mit jedem anderen in dem Areal verbunden wäre oder jedes Neuron an den langen interarealen Verbindungen beteiligt wäre.

Demgegenüber steht das prinzipielle Design des Kortex, dass Neurone spärlich verbunden sind, dass die meisten Verbindungen lokal, und dass nur eine begrenzte Untergruppe von Neuronen in die langen Distanzverbindungen eingebunden sind.“ (Shepherd 2004)⁹³. Auch die patchige Struktur lässt sich zumindest theoretisch unter diesem Gesichtspunkt verstehen.

„Ähnliche Argumente können für die patchigen Verbindungen innerhalb der kortikalen Areale angeführt werden, die ein bedeutendes Merkmal kortikaler Organisation ist. Ein gegebenes Cluster von Neuronen projiziert zu einer Anzahl von Stellen innerhalb eines kortikalen Areals. Diese Cluster tendieren dazu, Bereiche gleicher funktioneller Eigenschaften zu verbinden. Die Größe der Cluster, ungefähr 400 μm , ist bemerkenswert uniform zwischen den Areas. Diese Größe ist ähnlich zur Größe der Dendritenfelder. Malach 1992 hat theoretisch gezeigt, dass solch eine Organisation die Diversität der Verarbeitungen in einem solchen kortikalen Areal ansteigen lässt, das eine nichtuniforme Verteilung von funktionalen Eigenschaften hat.“ (Shepherd 2004)¹⁰⁰

Auch auf Neuronenebene lässt sich dieses Prinzip finden. Die zellsomaten Axonterminalien weisen eine größere Boutondichte auf als die entfernteren (Binzegger, Douglas et al. 2007).

Mit dieser Betrachtung werden Modelle angesprochen, die gegenwärtig als Denkvorlage für die strukturelle Seite der Netzwerke geprüft und experimentell erprobt werden (Mathias and Gopal 2001). Es sind Modelle, die versuchen, den biologischen wie sozialen Netzwerken gerecht zu werden, die weder streng hierarchisch durchorganisiert noch zufällig strukturiert sind, sondern sich dadurch auszeichnen, dass sie eine hohe Verbindungsdichte in Gruppen (Clustering mit hohem Clusterkoeffizient) mit sparsamen Verbindungen zwischen diesen Gruppen in sich vereinen („small-world-networks“). Der Vorteil dieser Netzwerke ist, dass von einer Stelle über wenige Zwischenschritte jede andere Stelle im Netzwerk erreicht werden kann. Diese Optimierung wird strukturell durch direkte Nachbarschaftsbeziehungen und wenige weitreichende, aber direkte Verbindungen zu entfernten „Nachbarn“ geschaffen (Watts and Strogatz 1998a).

Die Betrachtung von Netzwerken durch die Graphentheorie ist damit als Alternative zu den bislang räumlich gedachten modularen Strukturen geeignet, einerseits die Denkfigur der Kolumnen/Module in ihren kleinräumigen Nachbarschaftsbeziehungen aufzugreifen, andererseits aber deren Abgrenzungsaspekte produktiv zu überwinden, indem sie Nähe

⁹³ A.a.O. S.516f, Übersetzung KvW

nicht örtlich-räumlich definieren, sondern funktionell-räumlich in ihren Netzwerkbeziehungen. Benachbarte Neurone sind nah, wenn sie direkt verbunden sind, fern, wenn sie über mehrere andere Neurone Verbindung haben. Einander örtlich ferne Neurone sind nah, wenn sie direkt verbunden sind. Das Besondere der „Small-World-Netzwerke“ ist die Gruppierung innerhalb des Netzwerkes, die weder durch ein einheitliches Muster noch durch Zufälligkeit gekennzeichnet ist. Die Beziehungsstruktur ist funktional orientiert. Diese Modelle taugen deshalb für eine Betrachtung von Neuronennetzwerken, weil diese das Ergebnis eines Generierungsprozesses sind, bei dem Beziehungen (Verbindungen zwischen Neuronen) eines zunächst genetisch gesteuerten Prozesses sich während der Ontogenese durch Nutzung stabilisieren und durch Nichtgebrauch schwächen oder ganz abbauen. Das Ergebnis sind Netzwerke, die bestimmte Funktionen präzise erfüllen.

Die hier vorgelegten Befunde der intrinsischen Verbindungen im Motorkortex passen stimmig in diese Modellierung. Alle Indizien der patchigen Struktur des intrinsischen Netzwerkes sprechen für eine „Small-World-Netzwerk“-Struktur, in der Neuronenpopulationen direkte „Nachbarschafts“-Verbindungen in den Patches eingehen und an andere Neuronengruppen über langreichweitige Beziehungen gekoppelt sind, die zwar örtlich entfernt, aber funktionell „nah“ sind (vgl. Kap. 4.2.1).

Zu diesem Modell liegen einige experimentelle physiologische Befunde vor. In ersten Näherungen konnten Nikolic et al. (Yu, Huang et al. 2008) anhand von paarweise ausgewerteten Multiunitableitungen (Populationsmuster) aufzeigen, dass die Verbindungsstrukturen „small-world“-Eigenschaften zeigten (ohne skalenfrei zu sein)⁹⁴ (Barabasi and Bonabeau 2004) und in ihren Synchronisationsmustern sowohl lokalen wie komplexen Interaktionszusammenhängen genügten. Damit wären sie sowohl für die Detektion von bestimmten Eigenschaften (Parametern) wie auch der Informationsintegration (Bindungsproblem) optimiert (Li and Chen 2003, Sporns and Zwi 2004, Schoffelen, Oostenveld et al. 2005, Biederlack, Castelo-Branco et al. 2006, Singer 2009).

Das Substrat dieser Eigenschaften findet sich zweifelsohne auch in den weitläufigen intrinsischen Verbindungen. Modellierungen patchiger Netzwerke konnten zeigen, dass sich teilweise überlappende Netzwerke sowohl hinsichtlich des Volumens der Verbindungen als auch der Verbindungslängen effizient sind und Synchronisierungen optimieren. Zudem stimme das Modell mit anatomischen Studien relativ gut überein (Kotter and Sommer 2000, Stephan, Hilgetag et al. 2000a, Tomasi and Volkow 2010, Voges, Guijarro et al. 2010a).

Damit gewinnen die Netzwerke eine neue Charakteristik im Denken der Neurowissenschaften. Es sei an den Anlass für diese Arbeit erinnert, dass das Erstaunen über die Reichweiten der intrinsischen Verbindungen deshalb so immens war, weil das Struktur-Funktions-Modell der Biowissenschaften auch das Denken über Neuronennetzwerke bestimmte. Diese sind jedoch in der neuen Sichtweise nicht „feste“ anatomische Strukturen

⁹⁴ „skalenfrei“: „Zahlreiche komplexe Netze haben eine wichtige Eigenschaft gemeinsam: Einige Knoten verfügen über sehr viele Verbindungen zu anderen, die meisten dagegen nur über sehr wenige. Es gibt keine typische Anzahl an Verbindungen pro Knoten. Dem Netz fehlt eine Skala, das heißt ein innerer Maßstab.“ (Barabasi 2004, S.64)

wie sie in den somatotopen und kolumnären Modellen gedacht waren, sondern transiente dynamische Erscheinungen mit gleichwohl klaren Funktionen. Da Costa wendet den Begriff der autopoietischen Systeme für diese Neuronen-Netzwerke an. Dieser Begriff wurde zu Beginn der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts von den Neurobiologen Maturana und Varela in die Diskussion um Leben, Bewusstsein und das neue Denken über vernetzte Systeme eingeführt. Sie stellten mit dem Begriff der „autopoietischen Systeme“ vor allem zwei Eigenschaften heraus:

- sie sind selbststeuernde und sich selbsterhaltende, aktive, oft nichtlinear dynamische Erscheinungen, die
- eine Entwicklungsgeschichte haben und kontextabhängig sind (Maturana and Varela 1987).

Intrinsische Neuronennetzwerke unter dieser Perspektive zu beschreiben, können, neben den oben genannten Eigenschaften als Populationen mit Neuronenindividualität in Rückkopplungsschaltkreisen vertikaler und horizontaler Verbindungen, folgende Charakteristik herausstellen:

- es sind distributive Systeme mit weiter Informationsstreuung, die die strukturelle Grundlage für die Balancierung exzitatorischer und inhibitorischer Aktivitäten sind (Haider, Duque et al. 2006), die ihre Wirkung auch dadurch entfalten, dass sie unterschwellige Impulse amplifizieren können (da Costa 2010, S.8),
- die aber vor allem keine feste Größe, sondern transiente Erscheinungen sind, in denen die Neuronenzusammensetzung des Netzwerkes sich ständig in wechselnder Erscheinung zeigt (Douglas and Martin 2009),
- die sich dynamisch verändern, d.h. sich in ihrem raumzeitlichen Verhalten innerhalb des Schaltkreises zufällig oder deterministisch verhalten (Abeles 1991),
- die ökonomisch und effektiv agieren, indem manche bei Aktivierung ihre Feuerraten senken und dadurch das störende Rauschen reduzieren (Nelson 2002, Boucsein, Nawrot et al. 2011),
- die interdependent und kontextbezogen sind, da ihre zelluläre und synaptische Dynamik nicht nur Aktivität bewirkt, sondern selbst aktivitätsabhängig und situationsabhängig im Kontext des Gehirns reagieren (Nelson 2002, da Costa and Martin 2010, Olshausen 2010, Harris and Thiele 2011)⁹⁵.

⁹⁵ Nelson S.23, rechte Spalte; da Costa S. 8, 1. Spalte Mitte

4.9. Wissenschaft und Erkenntnis

So bleibt aus meiner Sicht als gegenwärtiger Stand ein Modell des intrinsischen Netzwerkes, das räumlich strukturiert ist, aber unseren räumlichen Ordnungs- und Gestaltkriterien nicht entsprechen will, dass in seiner Funktion äußerst effektiv arbeitet, aber für uns Menschen keine vertrauten anatomischen Regelmäßigkeiten ausbildet.

Eine Bienenwabe erscheint uns als perfekt ebenmäßig gebautes Gebilde. In einem Titelbild von „Bild der Wissenschaft“ der ersten Jahre wurde eine Bienenwabe einem Wabenkatalysator gegenübergestellt. Neben dem völlig gleichmäßig gebauten technischen Gerät traten auf einmal die vielen „ungleichmäßigen“ Waben der Biene in Erscheinung, die die Wabe als schief und verzerrt gebaut erscheinen ließen. Biologische Systeme leben von der Fehlertoleranz, die Menschen in der Regel nicht geheuer vorkommt. Distributive Systeme sind gewissermaßen ein Extrem dieses Problems, deren prozesshafte Ordnungen nicht so recht in unsere raumzeitlichen Modelle zu passen scheinen.

Hier scheint sich in der Tat ein Paradigmenwechsel anzudeuten, wie er in der Physik geschehen und in der Ökologie schon deutlicher geworden ist. Nämlich dass aus einer uns unübersichtlich, ja chaotisch erscheinenden Vielfalt klare, meist eindeutige stabile Lebenserscheinungen erwachsen.

Damit hat die Erforschung der langreichweitigen intrinsischen Verbindungen mitgeholfen das bisherige Bild des Gehirns zu verändern, das von stimulusverarbeitender Neuronen- und Lokalisationstheorie spezifischer, Information akkumulierender und repräsentierender Kortexareale geprägt war. Das neue Bild entwirft ein Organ mit interaktiver Informationsprozessierung durch dynamische Neuronenpopulationen unterschiedlicher Kooperationsebenen.

Die Diskussion um die intrinsischen Verbindungen im Motor- und Neokortex haben gezeigt, dass wir dazu keinen intuitiven Zugang haben. Für uns Menschen sind solche distributiven Netzwerke kognitiv schwerer zu handhaben als geordnete Raum-Zeit-Modelle mit klaren Strukturen und zugeordneten Funktionen, die den auf Homöostase angelegten biologischen Systemen jedoch selten gerecht werden.

Am Beispiel der Erforschung des Motorkortex lässt sich das grundlegende philosophische Problem veranschaulichen, wie in den (Neuro-)Wissenschaften Modelle entwickelt werden und welcher Stellenwert ihnen zugeschrieben wird. Die Aussage, dass der Neokortex modular aufgebaut ist und die Kolumnen die physiologischen Grundeinheiten sind, hat dazu geführt, dass dieses Konzept bis in die Verwirrung des Begriffes diversifiziert worden ist, um es mit der Wirklichkeit verträglich zu halten. Damit ist jedoch lediglich deutlich geworden, dass hier ein dem Menschen einleuchtend erscheinende Einteilung zu einem Grundprinzip der Wirklichkeit gemacht werden sollte, also zu einem Begriff (von begreifen, verstehen) wurde, dessen Inhalt aber real so nicht existiert, sondern menschlichem Vereinheitlichungsbestreben vielleicht auch nur Vereinfachungsbestreben anzurechnen ist. Zeitliche und räumliche Einteilungen haben für uns Menschen jedoch einen besonderen (hohen) Erklärungswert und wir sähen diese Einteilungen gern auch in der Wirklich-

keit als gegeben an. Wissenschaft hat gerade hier ihre Aufgabe, nicht zu früh die möglichen Hypothesen auf eine einzige einzuengen (Olshausen 2010).

Das Beispiel "Motorkortex" zeigt jedoch auch, wie Denkmodelle des Menschen Hilfsfunktionen bei der Aufklärung von Zusammenhängen der Realität erfüllen, weil sie diese selber nicht unmittelbar abbilden, sondern geistige Werkzeuge mit Verfallsdatum sind.

So erweisen sich die Modelle der Somatotopik und der kolumnären Struktur-Funktions-Einheiten als überholt, aber wir sollten uns bewusst bleiben, dass auch die „small-world-Networks“ geistige Hilfsmittel mit Verfallsdatum sind. Anregend sind dazu die Ausführungen über Modelle von Paul Cordo und Victor Gurfinkel in einer Dokumentation eines Kongresses zum Motorkortex (Cordo and Gurfinkel 1992):

Sie weisen darauf hin, dass in Anlehnung an N. Bernstein (Bernstein 1958) ein Modell nicht richtiger sein kann als ein anderes, es kann nur falsch sein. Ein Modell hat die Aufgabe, nicht die komplexe Wirklichkeit abzubilden und zu erklären, sondern uns zu helfen, über dieses System nachzudenken und Hypothesen zum Test unserer Ideen zu entwickeln. Modelle brauchen wir für nicht verstandene Zusammenhänge. Und die Frage ist, welche Zusammenhänge ein Modell anspricht und welche es zu verstehen sucht, nicht, ob es für alles gilt. Wir müssten lernen, die Grenzen unserer Modelle zu akzeptieren.

In diesem Sinne behalte der experimentelle und argumentative Widerspruch seine kreative Funktion, menschliches Denken flexibel und die Modelle erkenntnisfunktional zu halten.

5. Schlussfolgerung

Die langreichweitigen intrinsischen Verbindungen und die patchige Verteilung der Neurone auch im humanen Motorkortex unterstützen die Sicht der motorischen Areale als Netzwerke, die einen hohen Grad an Selbstorganisation besitzen, vielfältigst miteinander in wechselseitiger Kommunikation unter einander stehen und als zweidimensionale Struktur die mehrdimensionalen motorischen Aufgaben erfüllen. Welche Prinzipien zu tragfähigen Konzepten verbunden werden können, müssen weitere Struktur-Funktions-Untersuchungen und eine kreative Wissenschaftlergemeinschaft erbringen.

Der Ausgangspunkt der Diskussion einer angemessenen Konzeption des Motorkortex war die Vorstellung, dass die Neurone der motorischen Kortexfelder in funktionellen Säulen angeordnet sind, die jeweils einen bestimmten Muskel steuern (Somatotopik, modulare Struktur). Dieses Denkmodell musste durch die verteilten Körperrepräsentanzen und die mit den langreichweitigen und distributiven intrinsischen Verbindungen verbundenen Einflussmöglichkeiten zugunsten eines integralen Konzeptes aufgegeben werden. Hierfür scheint auf struktureller Ebene gegenwärtig das „small-world-Konzept“ am ehesten geeignet, die Realität der motorischen Welt und ihrer Konnektivität einzufangen. Die tatsächlichen Verbindungen bedürfen weiterer anatomischer Detailarbeit.

6. Ausblick

In den letzten zwanzig Jahren hat sich das Bild des Motorkortex grundlegend gewandelt. (Rizzolatti and Luppino 2001) beschreiben die Funktion des Motorkortex als eine Stelle, die interne Repräsentationen von Bewegungen entwirft, die sowohl für Bewegungsinitiierung und –ausführung, als auch für das Verstehen von Verhalten und für imitierendes Lernen genutzt werden können⁹⁶. Deshalb weisen sie dem Motorkortex nicht, wie früher, eine nur übersetzende Funktion von Gedanken, Gefühlen und Affekten in Bewegungen zu, sondern eine von den kognitiven Verarbeitungen unterscheidbare, aber vergleichbare Funktion, etwa bei der Transformation vor allem visueller Informationen von Objekten und deren Orten im Raum in zielabhängige Bewegungen, bei den Erfahrungen im Beobachten externen Verhaltens und bei Entscheidungsprozessen für Bewegungsinitiation⁹⁷. Darüber hinaus haben die Auswirkungen von Lernvorgängen und Läsionen gezeigt, wie flexibel sich der Motorkortex anpasst. Strukturelle Veränderungen (Aussprossen von Axonen, Rezeptordichteveränderungen) nach Läsionen (Capaday 2004) und synaptischen Veränderungen sowie Repräsentationsänderungen im Motorkortex (Sanes and Donoghue 2000, Teskey, Monfils et al. 2002, Monfils, VandenBerg et al. 2004, Harms, Rioult-Pedotti et al. 2008) weisen auf die autopoietischen Fähigkeiten des Gehirns hin.

Damit rückt die schon oben angesprochene Aufgabe dieses Netzwerkes in den Mittelpunkt der Überlegungen: Durch welche Mechanismen steuert dieses Netzwerk Planung, Aufschub, Ausführung und Verlaufskontrolle des Verhaltens? Wie wird Information in den Entladungsmustern der Neurone kodiert und nach welchen Algorithmen verarbeitet? In ihrem Herausgebervorwort (Dickson and Moser 2007) zum Themenheft „Neurobiologie des Verhaltens“ weisen Dickson und Moser darauf hin, dass die wesentlichen Fragen der Verhaltens- und Kognitionswissenschaften nur beantwortet werden könnten, wenn die Forschung die Zusammenhänge auf unterschiedlichen Ebenen von Mikroschaltkreisen und Neuronenpopulationen mit ihren Myriaden individueller Zellen und spezifischen Verbindungen durchdringt. Nur durch ein vollständiges Verstehen dieser neuronalen Systeme könne begriffen werden, wie z.B. psychische Funktionen den synaptischen und zellulären Prozessen entspringen.

Für die Beantwortung dieser Fragen kann die anatomische Forschung den Beitrag leisten, die tatsächlichen Verbindungsstrukturen der Netzwerke aufzuklären. Dafür hat die vorliegende Arbeit einen der ersten Schritte getan und zugleich deutlich werden lassen, dass diese Arbeiten wesentlich detailreicher geschehen müssen. Die aus dieser Arbeit zu folgernden Anregungen weiterer Untersuchungen können daher nur ein weiterer erster Schritt sein, zumal sie von der Verfügbarkeit der zu untersuchenden (humanen) Gewebe abhängig sind:

Um die Netzwerke genauer lokalisieren zu können und insbesondere das Netzwerk in den Schichten V und VI quantitativ zu erfassen, sollten unterschiedlich große Kristalle gezielt

⁹⁶ A.a.O. S.899

⁹⁷ A.a.O. S.889

in verschiedene Schichten sowohl in vertikalen als auch horizontalen Schnitten eingebracht werden.

Soweit die verfügbaren Gewebe es erlauben, sollte ein Vergleich der Hemisphären sowohl von Männern und Frauen als auch von ontogenetischen Verläufen angestrebt werden.

Perspektivisch steht die Erforschung der intrinsischen Konnektivität erst am Anfang und muss künftig vor allem die spezifischen Verbindungsstrukturen ermitteln, die bisher nur postuliert werden können. D.h. welche spezifischen Verbindungen werden z.B. über die Boutons en passant bedient, welche Zellen, welche Rezeptoren spielen eine Rolle. Es müssen spezifische Marker für Zellen, Rezeptoren und Synapsen und die dazu passenden Fluoreszenzfarbstoffe gefunden werden, um die Netzwerke im Detail zu rekonstruieren. Verschiedene Methoden (EM, gentechnische Verfahren (z.B. Optogenetics), physiologische Versuche u.v.a.m.) müssen kombiniert werden. Ob und wie eine solche Aufgabe der Aufklärung intrinsischer Netzwerke gelingen kann, wird von vielerlei insbesondere auch methodischen Entwicklungen abhängen. Hier setzt die Ethik der Erforschung des Menschen naturgemäß enge Grenzen, allerdings können Tiermodelle wesentliche Grundlagen erforschen helfen.

Ausgehend von den eigenen Untersuchungsansätzen wird in einer Kooperation mit dem „Buchmann Institute for Molecular Life Sciences“⁹⁸ der Versuch unternommen, das gesamte mit Dil gefärbte Gewebeblöckchen oder zumindest bis zu 1 cm dicke Kortexstreifen für das neu entwickelte Scheibenlasermikroskop (light sheet-based fluorescent microscopy, LSFM) aufzubereiten, das räumliche Strukturen (in zeitlichen Abläufen) aufzeichnen kann (Stelzer and Lindek 1994, Huisken, Swoger et al. 2004). Ziel ist es, die 3-D-Rekonstruktion des durch Dil gefärbten Netzwerkes in situ zu erstellen. Dazu muss das Gewebe „durchsichtig“ werden, um den Brechungsindex zwischen Gewebe und umgebenden Medium anzunähern. Bisherige Verfahren scheiterten daran, dass der Farbstoff bei der Vorbereitung für die Scheibenlasermikroskopie auslief. Neue Verfahren auf Wasserbasis versprechen einen gangbaren Weg, zumal ein Maushirn bereits erfolgreich behandelt wurde (Hama, Kurokawa et al. 2011). Die Versuche mit menschlichem Gewebe sind jedoch bisher noch nicht von Erfolg gekrönt, was an den noch nicht ausreichenden Inkubationszeiten von mehreren Wochen und Monaten liegen mag, aber auch anderen Faktoren (Fixierungsverfahren, Alter der Gewebe u.ä.) geschuldet sein kann.

Untersuchungen mit dem Scheibenlasermikroskop würden z.B. die Fehlerquellen bei der Einebnung des Kortex, sei sie praktisch oder rechnerisch, um Größenordnungen minimieren. Das würde im Prinzip alle Fehlerquellen betreffen, die durch das Zerschneiden des Gewebes entstehen. Wenn dieser Weg realisiert werden könnte, wäre neben der Färbung des intrinsischen Netzwerkes nach Markern für spezifische Proteine zu suchen, um Verbindungsmuster und Raumbilder etwa einer Patchesäule zu erstellen.

Die Aufgaben sind enorm:

Allein auf biologischer Ebene ist die Dynamik des Gehirns atemberaubend, wie Krubitzer und Kahn zur Problematik von „nature versus nurture“ hinsichtlich molekularer und gene-

⁹⁸Goethe Universität Frankfurt, Max-von-Laue-Str. 15, 60438 Frankfurt am Main

tischer Einflussfaktoren der Gehirnentwicklung darlegen (Krubitzer and Kahn 2003). Zur Bedeutung der Aktivität von Neuronensembles wurde in Kapitel (4.6.) ein kurzer Überblick gegeben. Die Verbindungen motorischer Aktivitäten zu kognitiven Prozessen sind offensichtlich, harren jedoch der weiteren Aufklärung im Detail (Glover, Rosenbaum et al. 2004, Andres, Seron et al. 2007, Badets, Andres et al. 2007).

Um die Bedeutung der intrinsischen Verbindungen noch um einen weiteren Aspekt zu charakterisieren, sei in diesem Zusammenhang erwähnt, dass der motorische Kortex eine relativ junge evolutionäre Errungenschaft der Säugetiere ist.⁹⁹ Es sind vor allem die feinmotorischen Fähigkeiten des Menschen, die der Motorkortex steuert und die bedeutsam für die Aneignung der Welt sind, weil sie unspezifisch sind und feine Manipulationen erlauben. Die Rizzolatti-Gruppe konnte in ihrer Analyse von Verbindungsstrukturen in Affenhirnen zwei grundlegend unterschiedliche prämotorische Bereiche feststellen, der eine, parietalverbunden, ist afferenzbezogen und koordiniert die Afferenzen mit den motorischen Aufgaben, der andere ist präfrontalbezogen und hat kognitive Dimensionen motorischer Entscheidungen (Rizzolatti, Luppino et al. 1998, Kotter, Stephan et al. 2001, Rizzolatti and Luppino 2001). Hier ergänzen TMS-Studien entsprechende Belege für den Menschen (Jenmalm, Schmitz et al. 2006, Olivier, Davare et al. 2007, Tomassini, Jbabdi et al. 2007, Behrens and Sporns 2012).

Damit nicht genug, neuere physiologische Untersuchungen zeigen die größere Bedeutung motorischer Areale für das Verhalten und für Leistungen höherrangiger Assoziationsfelder des Gehirns. Als Beispiel mögen die „Spiegelneurone“ dienen (Nelissen, Luppino et al. 2005, Nelissen, Borra et al. 2011). Dieser besondere Typ von Neuronen wurde in dem ventrolateralen prämotorischen Areal entdeckt: Diese Zellen feuern nicht nur, wenn Greifbewegungen erfolgen, sondern auch, wenn z.B. ein Affe nichts tut, außer die Greifbewegungen anderer Affen oder des Versuchsleiters zu beobachten. Sie wurden deshalb Spiegelneurone genannt. Sie zeigen eine Ebene kognitiver Verarbeitung des Verhaltens, die erst ab einem bestimmten Differenzierungsgrad der Assoziationsfelder möglich wird. Mit der Entwicklung des Motorkortex lockerte sich auch die instinktive Verankerung der Organismen in ihre Umweltbezüge. Rizzolatti (Rizzolatti, Fadiga et al. 1996) sieht in dem System von Spiegelneuronen ein altes System der Kommunikation, das der Vorläufer für das Brocazentrum für Sprache war.

Diese Spiegelneurone gewinnen in der Rehabilitation (z.B. bei schwerverletzten Soldaten im Afghanistankrieg) eine besondere Bedeutung, weil über ihre Aktivität neue Bahnungen zwischen Muskeln und Kortex initiiert werden können, was auch in der Schlaganfallrehabilitation von zentraler Bedeutung ist (Zentgraf 2003). Auch dies ist nur denkbar, wenn intrinsische Verbindungen existieren, die neue Signal-Wege ermöglichen (Castellanos, Leyva et al. 2010a, Castellanos, Paul et al. 2010b).

⁹⁹ Der Motorkortex hat die Funktion des Archistriatum bei Fischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln übernommen. Zunächst bildeten bei niederen Säugern sensorische und motorische Bereich noch ein gemeinsames Areal (sensomotorischer Kortex), bei der Katze überschneiden diese sich noch, während sie bei Primaten und Mensch zwei getrennte Areale bilden. Beim Mensch verdeutlicht der sechsmal größere prämotorische Kortex gegenüber dem Makaken (auf Körpergewicht bezogen) die enorme Entwicklung der neokortikalen Steuerung, insbesondere der Feinmotorik von Händen und Mundbereich (Sprache). (Hanser, Scholtyssek 2000)

Diese kognitiven Fähigkeiten können ihre Funktion jedoch nur entwickeln, wenn entsprechende motorische Erfahrungen vorliegen. Was damit gemeint ist, konnten Held und Hein in Katzenversuchen zeigen (Held and Hein 1963). Sie ließen unerfahrene Kätzchen ihre Umwelt erkunden mit einem entscheidenden Unterschied: über ein Gestell miteinander verbunden (Abb. 94) konnte das eine Kätzchen aktiv sein, während das andere in einem Korbchen alles miterleben konnte, aber selber nicht aktiv war. Die Folgen waren deutlich, weil die den Raum selbst erkundenden Kätzchen Sicherheit z.B. im Umgang mit Tiefenwahrnehmung zeigten, während die passiven Kätzchen deutliche Defizite hatten. Ähnliche prägende Auswirkungen zeigten einseitige Wahrnehmungsmuster (Muir and Mitchell 1975, Sporns and Edelman 1993).

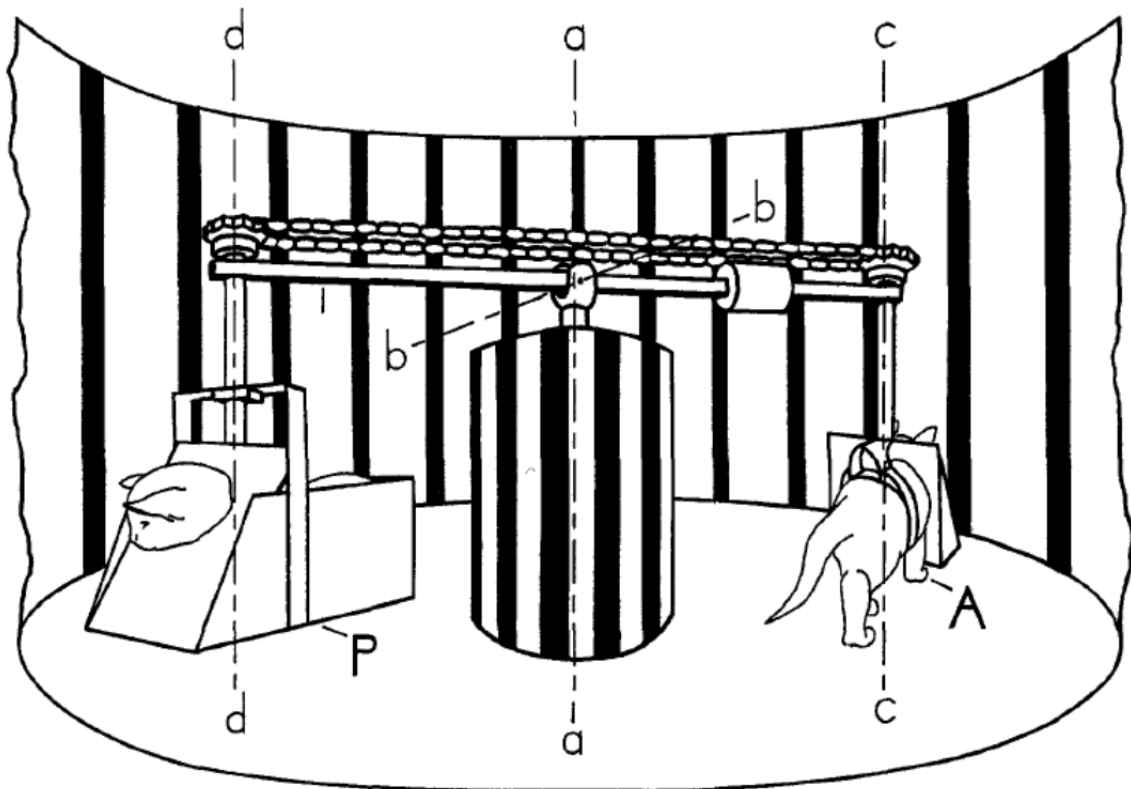


Abb. 94: Raumerfahrungen

Apparat für gleiche Bewegung und visuelle Rückmeldung für eine sich aktive (A) bewegende und eine passiv bewegte Katze (P), die einander nicht sehen können. Die aktive Katze hat eingeschränkte Bewegungsmöglichkeiten in drei Achsen (a-a, b-b, c-c), die über das Gestänge auf die Gondel der passiven Katze übertragen werden (a-a, b-b, d-d).

Aus: Held und Hein 1963, S.873

Damit wird deutlich, wie tiefgreifend visuelle und motorische Erfahrungen unser Bild von der Welt prägen. Wir sollten uns vergegenwärtigen, dass die kindliche Synapsendichte im Gehirn viel höher als bei Erwachsenen ist und Erfahrungsprozesse im Wortsinn hier auf das Nervensystem prägenden Einfluss haben. Hier zeigt sich, welches kompensatorische, innovatorische, lernende Potential in den intrinsischen Verbindungen steckt. Ein Problem der gegenwärtigen Erziehungssituationen in Familie, Schule und Gesellschaft ist die enorme Reduktion körperlicher Weltaneignung der Jugendlichen gegenüber dem (hinsichtlich der Bewegungen) unspezifischen, weitgehend körperlich passiven Umgang mit virtuellen Welten.

Frühkindliche Prägungsnotwendigkeit und strukturelle Konnektivität kognitiver Weltnutzung mit motorischen Aktivitäten weisen auf die materielle Basis der umgangssprachlichen Bedeutung von „begreifen“ hin und warum Raum-Zeit-Bilder für uns Menschen von so großer Plausibilität sind.

Dies macht verständlich, warum wir uns mit distributiv vermaschten und mit flacher Hierarchie versehenen Netzwerken so schwer tun. Aber diese Modelle scheinen eher fähig zu sein, so unterschiedliche Bereiche wie Steuerung von Bewegungen, Entwicklung von Routinen, Kompensation von Läsionen und Umorganisation von Neuronennetzwerken bei Lernprozessen sowie die Ergebnisse der bisher traditionell somatotop interpretierten Untersuchungen vereinen zu können. Diese Modelle wurden durch die entdeckten intrinsischen Verbindungen erst möglich, weil sie die Sicht auf den Motorkortex revolutionierten. Die Komplexität und individuelle Diversität ihrer Verbindungen aufzuklären, steht als nächster Schritt an. Denn in ihnen scheint auch das Geheimnis des Menschseins zu liegen, denn der Mensch unterscheidet sich nicht durch eine herausragende Qualität von allen anderen Lebewesen, sondern eher durch die Kombination von kognitiven und motorischen Fähigkeiten, inklusive der Sprache, die ihn evolutiv so erfolgreich werden ließ (Roth and Dicke 2012)¹⁰⁰.

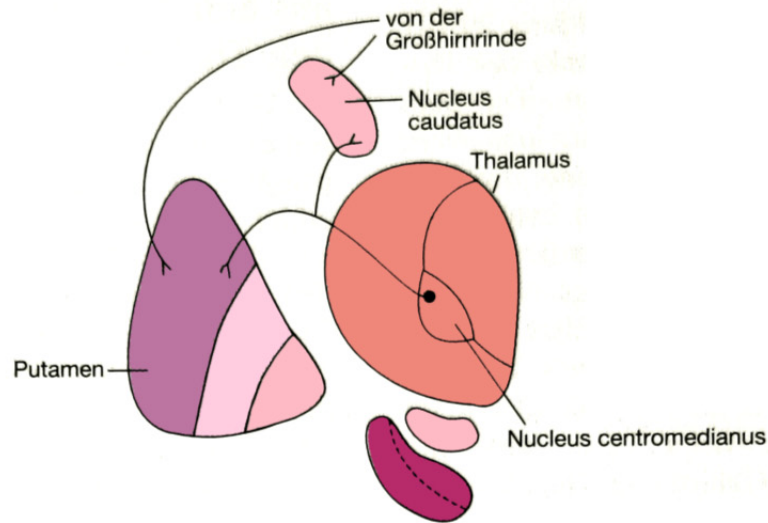
¹⁰⁰ A.a.O. S.256

7. ANHANG I zum Text

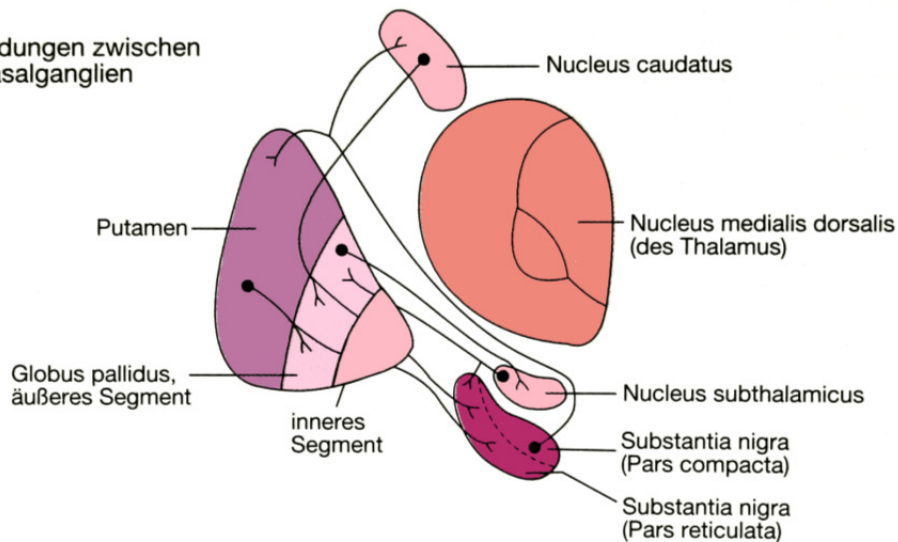
Im Anhang finden sich erklärende und ergänzende Ausführungen, die den jeweils unter der gleichen Nummer zu findenden Fußnoten zugeordnet sind.

Anhang 12: Verbindungsstruktur der Basalganglien

A afferente Verbindungen



B Verbindungen zwischen den Basalganglien



C efferente Verbindungen

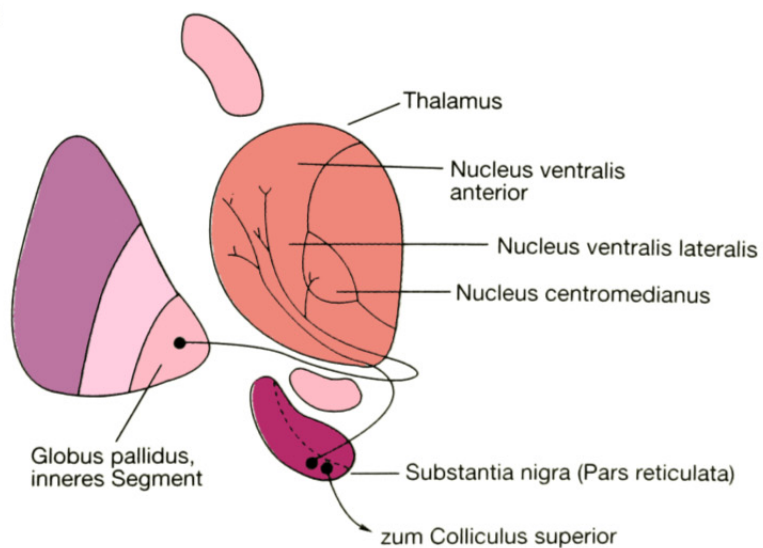


Abb. 95: Afferente (A), efferente (C) und interne Verbindungen der Basalganglien. Aus: Kandel 1996, S. 558

A



Im unteren Modell (B) taucht eine Taste für einen Ton mehrfach, im Kontext verschiedener Melodien auf, es gibt die Organisation verteilter Repräsentanzen im Motorkortex wieder. Fünf Töne sind im oberen und unteren Modell mit schwarzen Punkten gekennzeichnet. Dies zeigt den möglichen Vorteil verteilter Repräsentanzen auf, die kurze Wege bei der Koordination einer bestimmten Bewegung bedeuten.

Aus: Schieber 2001, S. 2139

Anhang 32: Zuordnung der Gewebekennzeichnungen zu den Sektionsnummern.

Interne Be- zeichnung	Sektions- nummer	Kennzeichnung in dieser Arbeit
M 10	S 1066/96	P1
M 12	S 141/97	P2
M 13	S 142/97	P3
	1136/03	P4
	814/04	P5
M 11	5/97	P6
	409/01	P7
	994/02	P8

Tab. 20: Sektionsnummern der Gewebe

Anhang 33: Einsatzbedingungen für DiI und Begründungskontext

Tab. 21: Einsatzbedingungen für DiI

	Temperatur Diffusionswert		Fixierung	Weitere Faktoren
	25°C / RT	37°C		
(Bloom and Webb 1983)	$8.2 \pm 1.2 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$	$2.1 \pm 0.4 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$		not perturbed by the presence of calcium or local anesthetics or by spectrin depletion (via mutation)
(Honig and Hume 1989) S.334		$10^{-7} - 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$		
(Chen, Miller et al. 2006) S.261	1.48±0.01mm at RT at 2 weeks	2.68±0.12mm at 37 °C at 2 weeks	no difference between fixation in 1% or 4% PF	
	2.57±0.05mm at 4 weeks	1.74±0.14mm at weeks		
		4.53±0.09mm after 9 weeks		
		8.89±0.23mm after 24 weeks		
(Lukas, Aigner et al. 1998)		$2.5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$		
(Haugland, Spence et al. 2010) Handbook Molecular Probes http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/brands/MolecularProbes.html	6 mm/day in live tissue, more slowly in fixed specimens			Staining of neurons in fixed tissue with DiI has been reported to persist for at least two years * does not appreciably affect cell viability, development or other basic physiological properties

* Title: **Long-term survival and sprouting in culture by motoneurons isolated from the spinal cord of adult frogs.**

Authors: Kuffler DP ,Journal: J Comp Neurol (1990) 302:729-738, Product Usage: ID: PN11242

Der Begründungskontext für den Einsatz von DiI

Der Farbstoff 1,1'-Dioktadezyl-3,3',3'-Tetramethylindokarbozyanin Perchlorat (DiI) hat sich als ein äußerst effektiver und verlässlicher Farbstoff in den Neurowissenschaften erwiesen (Zeile, Sketelj et al. 2010)¹⁰¹, die er vorher schon in der Histologie hatte. Er färbt reproduzierbar und vollständig (neurale) Zellstrukturen. Nachdem seine hervorragenden Diffusionseigenschaften in Membranen nachgewiesen wurden (Bloom and Webb 1983), wurde DiI (u.a. Karbozyanide) bei der Suche nach länger persistierenden und ungiftigen Fluoreszenzfarbstoffen für lebende Zelle für die Neurowissenschaften entdeckt. Kurz darauf wurde auch die Eigenschaft, fixiertes Gewebe lang und detailreich zu färben, festgestellt (vor allem (Honig and Hume 1986, Godement, Vanselow et al. 1987, Honig and Hume 1989, Honig and Hume 1989)). Seine in vivo und in vitro-Färbeeigenschaften führ-

¹⁰¹ A.a.O. S.212ff

ten schnell zu weltweiter Anwendung (als Beispiel möge dienen: (Belichenko 1990)). In dem ersten Review zu Dil (und DiO) wurden die besonderen Eigenschaften hervorgehoben:

„Langkettige Karbozyan-Farbstoffe fluoreszieren intensiv und bleichen in anregendem Licht nur langsam aus. Sie werden schnell in Membranen inkorporiert und diffundieren frei innerhalb der Membranebene. Wir fanden, dass die Karbozyanfarbstoffe Dil und DiO Neurone retrograd und anterograd färben und deshalb für neuronale Nachweisprojekte verwendet werden können.“¹⁰²

Diese Beschreibung trifft genau die Gründe, die zum Einsatz von Dil in der vorliegenden Untersuchung führte. Die einzigen Begrenzungen des Farbstoffes liegen darin, dass die Färbung lange Inkubationszeiten erfordert und sich vor allem nur für lokale neuronale Strukturen eignet (S.414 (Aigner, Lukas et al. 2000) und (Crick and Jones 1993).

Alle Untersucher haben die genannten besonderen Eigenschaften von Dil hervorgehoben (als Beispiele mögen dienen: S.57+59 (Holmqvist, Ostholm et al. 1992)¹⁰³; S.123, (Krassioukov, Bygrave et al. 1998); S.11 (Li, Yang et al. 2008) darin weitere Zitierungen¹⁰⁴. Damit wird angedeutet, dass der Einsatz des Farbstoffes zwar einfach und verlässlich ist, aber auch nicht ohne Umsicht geschehen kann (s. Rahmenbedingungen für die Färbung mit Dil, Kap. 2.2.2.). Von einigen Untersuchern wurde aber auch festgestellt, dass, wenn auch selten und meist in sehr geringem Umfang, Dil aus gefärbten Zellen auslief und an Stellen gefunden wurde, die eine Diffusion im wässrigen Medium nahelegte (S.844, (Wu, Russell et al. 2003); S.257f (Chen, Miller et al. 2006)).

Deswegen soll im Weiteren kurz darauf eingegangen werden.

Auslaufen und Diffusion

Es wird berichtet, dass Auslaufen des Farbstoffs aus der Zelle korreliert war mit
- einer erhöhten Calciumkonzentration (Hofmann and Bleckmann 1999),¹⁰⁵

¹⁰²“Long-chain carbocyanine dyes are intensely fluorescent, and fade relatively slowly when exposed to exciting light. They are rapidly incorporated into membranes, and diffuse freely in the plane of the membrane. We found that the carbocyanine dyes Dil and DiO label neurons retrogradely and anterogradely, and can therefore be used for tracing neuronal projections.” S.340 (Honig und Hume 1989)

¹⁰³“We found that the major advantages of Dil were the reproducibility and the apparently specific and complete labeling of defined neural systems when given the optimal exposure time.” S.57 und “In conclusion, it appears that Dil is extraordinarily well suited for experimental tract tracing in both anterograde and retrograde directions in the teleost CNS. In all cases, Dil labeling revealed projections previously known from studies employing other tracing techniques. In addition, Dil labeling consistently revealed new projections or, at least, more extensive connections than previously known. However, as discussed above, the technique should be employed with great care, and optimal transport times should be evaluated for each system under study, since the problem of transneuronal diffusion is not yet satisfactorily solved.” S.59 (Holmqvist und Ekstrom 1992).

¹⁰⁴Li (2008), S. 12: “Since Dil can be detected by fluorescent microscopy, this procedure is regarded as a simple and convenient labeling method (Pitas et al., 1981; Yoon et al., 2004; Dai et al., 2005; Deng and Elberger, 2001; Yoshida et al., 2002; McLennan and Kulesa, 2007).”

¹⁰⁵“Calcium is known to precipitate lipids in membranes. It also interacts with free, hydrophilic lipids and produces insoluble compounds (Vacca, 1985). If Dil becomes incorporated into these substances, it could diffuse with them through the cell plasma or extracellular space. It is possible that Dil could be transferred by this mechanism from one membrane to another, especially in heavily labeled fiber tracts.” S.30f (Hofmann und Bleckmann 1999)

- Diffusion bei höheren Temperaturen in fixiertem Gewebe (Chen, Miller et al. 2006)¹⁰⁶,
- langen Inkubationszeiten, die für Zelldefekte verantwortlich gemacht werden,
- der Färbung von Gewebeschnitten (Honig und Hume 1989, S.340).

Das Phänomen des Auslaufens ist in der Regel lokal begrenzt, was Z.Liu et al (Liu, Li et al. 2008) sogar dazu genutzt haben, das Ausmaß von Axonverlusten und –unterbrechungen mit einer Dil-Färbung zu detektieren (vgl. a. (Thanos, Fischer et al. 2000) zur Gliaforschung). Wo Diffusion von Dil in wässrigem Milieu stattfand, scheinen mir zwei Faktoren ausschlaggebend gewesen zu sein: die Applikation von Dil als Paste oder Lösung und fett-haltige Brücken, die bewirkten, dass z.B. der Rückenmarksrand Fluoreszenz akkumulierte, was durch eine Schutzschicht auch unterbunden werden konnte (Chen, Miller et al. 2006). Dass die Frage der Diffusion eng mit den Bedingungen der Dil-Applikation zu tun haben, zeigt z.B. die Arbeit von Aigner am Trigeminusnerv, bei der aufgrund der präzisen Applikation eines Dil-Kristalls Diffusion oder unspezifische Zellfärbungen nicht beobachtet wurden.¹⁰⁷

Zell-Zell-Transport

Obwohl immer darauf hingewiesen wird, dass der Transfer des Farbstoffes zwischen Zellen ein seltenes Ereignis sei, gibt es mehrere Berichte dazu. Schon Honig und Hume erwähnen 1989, dass zwischen der primären Färbung und den seltenen sekundären Färbungen („transcellular labelling“) durch Auslaufen klar unterschieden werden kann ((Honig and Hume 1989)S. 340). Von Bartheld berichtet von Dil-Transfer auf sekundäre Neurone und Gliazellen in jungen Hühnerembryonen, nicht aber bei älteren Embryonen und geschlüpften Küken (von Bartheld 1990) und sieht dies in den „tight-junctions“ und der embryonalen Lipidzusammensetzung begründet (S.726f). Hofmann et al (1999) schlugen eine Modifikation des Dil-Protokolls vor, dass im Wesentlichen die Decalcifizierung vorschlug, um transneuronalen Färbungen zu unterbinden (s.o.). Die Temperatur der Gewebeaufbewahrung scheinen vor allem in wechselwarmen Tieren als eine weitere mögliche Ursache für Diffusion und transneuronalen sekundären Färbungen in Frage zu kom-

¹⁰⁶ “We believe this was due to a partitioning effect between the dye, the aqueous medium and the lipid rich white matter around the edge of the cord. A very low concentration of dye dissolves in the aqueous medium and distributes through it by diffusion. Where this solution meets a lipid interface, the dye effectively partitions into the lipid environment and will continue to do so against a concentration gradient. The amount ending up in the lipid depends upon the partition coefficient of the dye between the organic and aqueous solvent. In this case it is very strongly in favor of solution in the lipid environment. This extremely low level of dye transfer through the aqueous medium only becomes important with prolonged incubation times.” Zitiert nach: Chen BK et al. 2006, S. 262

¹⁰⁷ “After tissue fixation, the oculomotor nerves were prepared near their entrance into the single EOMs and Dil (1,1'-dioctadecyl-3,3,3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate) was placed on the nerve stumps near its entrance into the EOMs with a fine microglass pipette.” Aigner (2000) S.412.
“Post-mortem tracing of carbocyanines is one of the promising neuroanatomical methods (Crick and Jones, 1993), and helps to avoid in vivo experiments. The structures are easily accessible by dissection in postmortem fixed tissue allowing precise placement of Dil crystals. This makes it easier to avoid diffusion. Furthermore, the use of post-mortem material also allows the utilization of this technique in human material. The limitations of this technique are relatively short labeling distances and long incubation times.” S.414, Aigner et al. (2000).

men (Hofmann 1999, S.31). Chen et al (2006) berichten von gefärbten Myelinscheiden, die nur durch Zell-Zell-Transfer erklärbar waren. Es wird von Farbtransfer auf Myelinscheiden, und Weitergabe über Oligodendrozyten von Axon zu Axon, die selten und nur nach langen Inkubationszeiten von 24 und mehr Wochen aufgetreten seien. Auf diesen Zusammenhang hatten schon Godement et al hingewiesen (Godement, Vanselow et al. 1987). Der Übertritt von Dil von Axon auf Myelinscheiden und wieder auf Axone wird von Faserbündeln berichtet (Zec and Kinney 2003), nicht aber von Kortexgewebe. Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnten keine Beobachtungen gemacht werden, die diesem Sachverhalt zugeordnet werden könnten.

Bei den berichteten Fällen sind vor allem zwei Ursachen sekundärer, transneuroner Färbungen bei Anwendung von Dil ernst zu nehmen:

- unmittelbarer Membrankontakt, wie dies auch bei Gliazell- und Myelinscheidenfärbungen in dieser vorliegenden Untersuchung zu beobachten war und bei wechselwarmen Tieren und allen Fällen engster Zellkontakte als Ursache in Frage kamen,
- Applikation von nichtkristallinem Dil, was insbesondere bei vorliegenden Lipidbrücken, z.B. bei Faserbündeln, etwa in Rückenmarksquerschnitten, ein Problem darstellen kann. Injektionen von Dil-Kristallen können so präzise vorgenommen werden, dass dies nicht als Grund für sekundäre Färbungen berichtet wurde.

Dil hat seinen Platz als sehr nützlicher Farbstoff in den Neurowissenschaften gefunden (z.B. (Kobbert, Apps et al. 2000, Vercelli, Repici et al. 2000, Shibata-Iwasaki, Dekimoto et al. 2007), der seine Effektivität gegenüber anderen Farbstoffen (Li, Yang et al. 2008, Zele, Sketelj et al. 2010) und seine Ergänzung durch andere Verfahren (Holmqvist, Ostholm et al. 1992, Matsubayashi, Iwai et al. 2008) erwiesen hat.

Anhang 35: Nissl-Färbung

Aufgezogene, gut getrocknete Schnitte durch absteigende Ethanolreihe ziehen

100% Ethanol	2 min
96% Ethanol	2 min
70% Ethanol	2 min
Aqua bidest	2 min
50% Kaliumdisulfitlösung	12 – 15 min
Aqua bidest	kurz spülen
1,5% Kresylviolettlösung	1 – 2 min, Färbung beobachten
0,2 M Acetatpuffer (pH 4,6)	2 min
Zum Differenzieren in 70% Ethanol tauchen,	
70% Ethanol	2 min
96% Ethanol	2 min
100% Ethanol	2 x 2 min, bis die weiße Substanz entfärbt ist
Xylolersatz (Histoclear™)	3 x 2 min

Einbetten der Schnitte in Histomount™

Kresylviolettlösung:

1,5 g Kresylviolett in

98 ml aqua dest.

1 ml 1 M Natriumazetatlösung

1 ml 1 M Essigsäure.

Histoclear™ und Histomount™ (Shandon Frankfurt)

Anhang 37: Mikroskoparbeitsplätze



Abb. 97: Mikroskoparbeitsplätze

Der Arbeitsplatz an der TU-Darmstadt zeigt rechts oben das Fluoreszenzmikroskop mit aufgesetzter Kamera und motorgetriebenem Kreuztisch mit Steuergerät (joystick), vergrößert rechts Mitte. Links der Arbeitsplatz im MPIH mit Camera lucida (Tubus rechts am Mikroskop) und Leucht-Zeichenstift (vergrößert rechts unten). Die blaue aufgesetzte Digitalkamera ersetzt die analogen Kameras an der Seite des Mikroskops (schwarzes Kästchen, roter Pfeil).

Anhang 42: Ermittlung der Koordinaten im eingeebneten Kortex

Korrektur der Tiefenwerte (Z-Werte):

Nach der Montage der Gewebezeichnungen zu einem Raumbild hat jeder Zellmarker Raumkoordinaten für seinen Ort. Der Z-Wert gibt die Tiefe (Z_{NL}) an, gemessen von der Oberfläche des ersten Schnittes (= 0). Die Tiefenwerte aller Marker, die unterhalb des ersten Schnittes liegen, entsprechen den tatsächlichen Tiefenwerten im Gewebe. Für alle außerhalb des ersten Schnittes liegenden Zellen müssen die Z-Werte korrigiert werden, weil durch die Gewebekrümmung die tatsächliche Tiefe im Gewebe der Strecke (Z_t) entspricht.

1. Korrektur: Die Z-Werte der Zellmarker werden korrigiert, indem der Wert $Z_{n\ddot{u}}$ vom Wert Z_{NL} abgezogen wird. $Z_{n\ddot{u}}$ entspricht der Anzahl Schnitte multipliziert mit ihrer Dicke (70 oder 100 μm), die die Zelle nicht überdecken, aber darüber liegen. Der errechnete Wert Z_s gibt die Tiefe des Zellmarkers im Programm Neurolucida senkrecht im Gewebe wieder (s. Abb. 99)

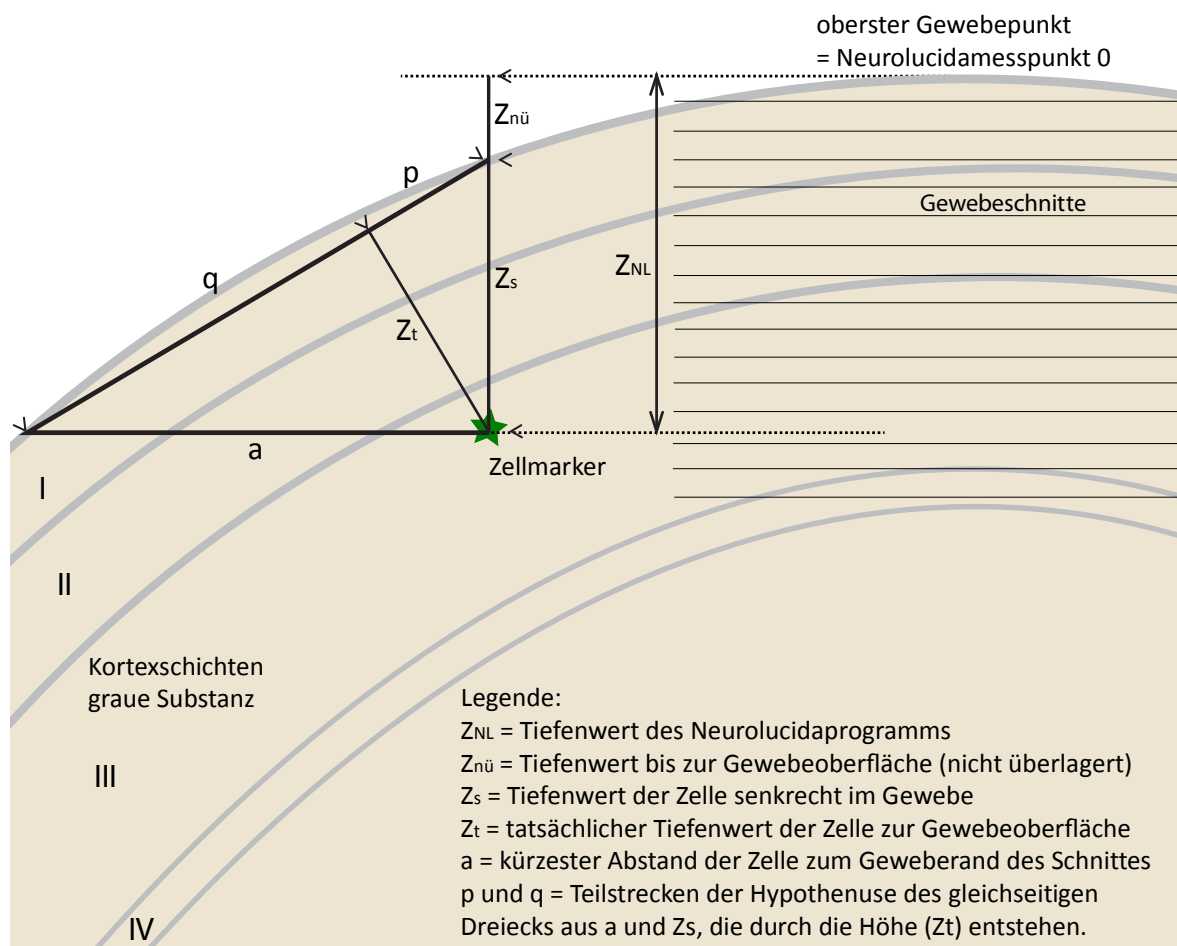


Abb. 98: Ermittlung der realen Kortextiefe

Die Skizze gibt durch die bräunliche Einfärbung die graue Substanz eines Gehirngyrus mit seinen Kortexschichten (römische Zahlen links) wieder. Die untersuchten Gewebeschnitte sind rechts durch feine waagerechte Striche angedeutet. Der grüne Stern kennzeichnet die Lage einer Zelle. Die obere gepunktete Linie zeigt den obersten Messpunkt des Zeichenprogramms „Neurolucida“ an, von dem aus alle Tiefenwert (Z_{NL}) angegeben werden. Von ihm wird der Wert $Z_{n\ddot{u}}$ subtrahiert, um die Strecke zwischen Gewebeoberfläche und Zelle zu errechnen (Z_s). Mit Hilfe des Randabstandes der Zelle im Schnitt (a) und des senkrechten Tiefenwertes Z_s kann die Höhe dieses rechtwinkligen Dreiecks (Z_t) errechnet werden (s. Text), die als Näherungswert für die Tiefe der Zelle im Gewebe verwendet wurde.

2. Korrektur (Abb. 99): Der errechnete Wert Z_s entspricht nicht der tatsächlichen Tiefe (Z_t) im schräg liegenden Gewebe, die durch die Höhe in dem rechtwinkligen Dreieck aus Z_s und dem Abstand der Zelle zum Geweberand des Schnittes (a) gebildet wird. Der Wert wird nach dem Höhensatz des Euklids berechnet.

$h^2 = p \cdot q$ (Höhensatz des Euklids): h entspricht Z_t , dem tatsächlichen Tiefenwert der Zelle im Gewebe, gemessen von der Gewebeoberfläche. Die Größen p und q ergeben in ihrer Summe die Hypotenuse des rechtwinkligen Dreiecks mit den Katheten Z_s und a . Mit Hilfe des Satzes des Pythagoras kann die Höhe (hier Z_t) aus den Werten a und Z_s errechnet werden.

$$a^2 + Z_s^2 = (p+q)^2 \quad p = \sqrt{Z_s^2 - Z_t^2} \quad \text{und} \quad q = \sqrt{a^2 - Z_t^2} : \text{einsetzen}$$

$$a^2 + Z_s^2 = (\sqrt{Z_s^2 - Z_t^2} + \sqrt{a^2 - Z_t^2})^2 : \text{Klammer auflösen}$$

$$a^2 + Z_s^2 = Z_s^2 - Z_t^2 + 2 \sqrt{Z_s^2 - Z_t^2} \times \sqrt{a^2 - Z_t^2} + a^2 - Z_t^2 : \text{kürzen}$$

$$2 Z_t^2 = 2 \sqrt{Z_s^2 - Z_t^2} \times \sqrt{a^2 - Z_t^2} : \text{kürzen und quadrieren}$$

$$Z_t^4 = (Z_s^2 - Z_t^2) \times (a^2 - Z_t^2) : \text{Klammern auflösen}$$

$$Z_t^4 = Z_s^2 a^2 - Z_t^2 a^2 - Z_s^2 Z_t^2 + Z_t^4 : \text{kürzen}$$

$$Z_t^2 (a^2 + Z_s^2) = Z_s^2 a^2 : \text{nach } Z_t^2 \text{ auflösen}$$

$$Z_t^2 = \frac{Z_s^2 a^2}{a^2 + Z_s^2}$$

$$Z_t = \frac{Z_s a}{\sqrt{a^2 + Z_s^2}}$$

Der tatsächliche Tiefenwert einer Zelle (Z_t) kann nun aus dem Randabstand a und dem korrigierten Tiefenwert Z_s des Neurolucidaprogramms errechnet werden. Mit diesem Z -Wert (Z_t) kann jetzt eine direkte Zuordnung der Zelle zu einer Kortexschicht vorgenommen werden.

Korrektur der x- und y-Koordinaten im eingeebneten Kortex (Abb. 99 und 100)

Die x- und y-Werte verändern sich bei der Projektion der Schichten in eine Ebene ebenfalls. Bei der Bestimmung der Entfernungen sollte daher eine Korrektur vorgenommen werden. Dazu wird die Entfernung des Zellmarkers vom höchsten Gewebepunkt bestimmt, diese Entfernung entspricht näherungsweise der neuen Entfernung auf ebener Fläche. Fallen Nullpunkt und höchster Gewebepunkt zusammen, können die Koordinaten von Neurolucida direkt verwendet werden. Und zwar wie folgt:

Die Entfernung eines Zellmarkers entspricht dem Vektor mit den x- und y-Koordinaten, d.h. seine Länge entspricht: Entfernung zum Nullpunkt der x-/y-Achsen beträgt: $\sqrt{x^2 + y^2}$.

Die Entfernung zum Nullpunkt der Raumachsen (Ausgangspunkt der Tiefenmessung in Neurolucida) entspricht in etwa der tatsächlichen Entfernung des Zellmarkers zum Nullpunkt im eingeebneten Kortex. Diese Entfernung wird dem rechtwinkligen Dreieck aus Entfernung des Zellmarkers (zum Nullpunkt der x-/y-Achsen) und dem Wert $Z_{n\ddot{u}}$, dem Tiefenwert der den Zellmarker nicht überdeckenden Schichten, zugrunde gelegt. Nach dem Satz des Pythagoras ergibt sich die tatsächliche Entfernung im eingeebneten Kortex aus der Gleichung

$$E'^2 = E^2 + Znü^2$$

$$E = \sqrt{x^2 + y^2}$$

$$E' = \sqrt{x^2 + y^2 + Znü^2}$$

Die Koordinaten x und y verändern sich proportional, so dass der Strahlensatz angewendet werden kann:

$$E : E' = x : x'$$

$$x' = \frac{E'x}{E} \quad \text{entsprechend} \quad y' = \frac{E'y}{E}.$$

Wenn sich der höchste Gewebepunkt und die Injektionsstelle, die als Nullpunkt der Neurolucida-Koordinaten gewählt wurde, nicht decken, müssen die zur Rechnung verwendeten x- und y-Koordinaten auf den neuen Nullpunkt durch Subtraktion umgerechnet werden. Dieser Vorgang wird wieder umgekehrt, indem die neuen Werte x' und y' durch Addition der Koordinaten des höchsten Gewebepunktes wieder auf den Nullpunkt der Injektionsstelle umgerechnet werden müssen. Jetzt geben die Koordinaten die tatsächlichen Dimensionen im eingeebneten Kortex mit dem Nullpunkt „Injektionsstelle“ wieder.

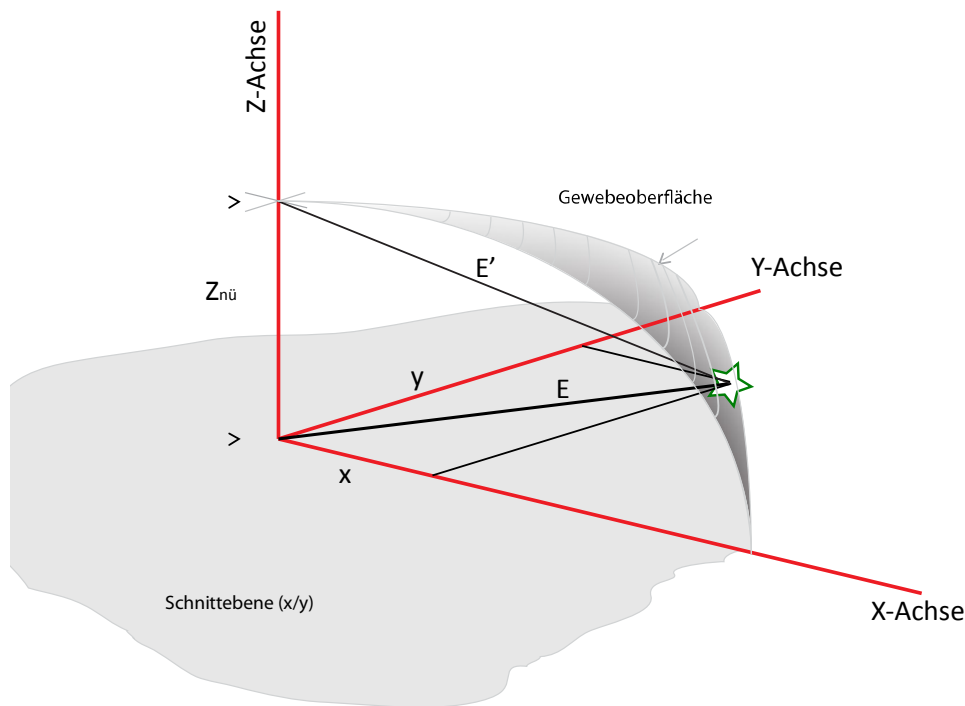


Abb. 99: Gewebeeinebnung rechnerisch, Ermittlung der korrigierten X- und Y-Werte.

Die Skizze zeigt einen Gewebeschnitt (untere graue Fläche) mit einer oberflächennahen Zelle (grüner Stern). Das sich darüber wölbende segelartige graue dreieckige Feld soll die Gewebeoberfläche darstellen. Der Nullpunkt des roten Koordinatensystems wurde auf den Schnitt unterhalb des höchsten Gewebepunktes gelegt, durch den in der Zeichnung die Z-Achse geht. Anhand der Koordinaten der Zelle (bezogen auf den höchsten Gewebepunkt) kann die Entfernung der Zelle (E) vom Nullpunkt sowie vom obersten Gewebepunkt (E') errechnet werden. Für die Errechnung von E' entspricht der Wert Znü der Strecke des ZNL-Wertes der Zelle, die nicht von anderen Schnitten überlagert ist (vgl. Abb. 98).

Fortsetzung s. Abb.100

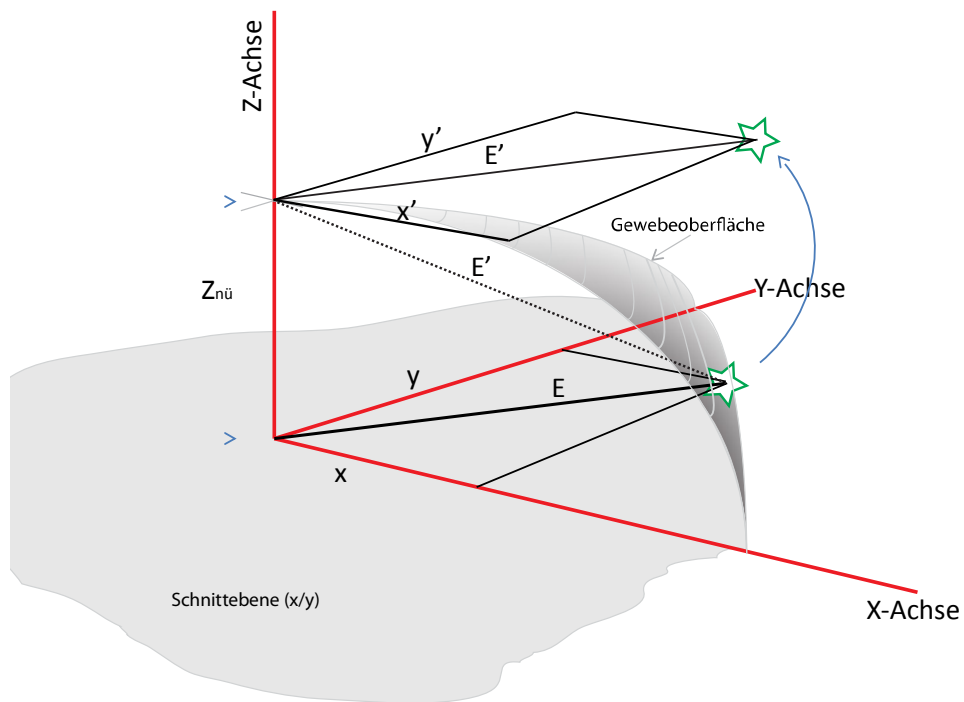


Abb. 100: Gewebeeinebnung rechnerisch (Fortsetzung von Abb. 99)

Wird nun das Gewebe rechnerisch eingeebnet, so „wandert“ die Zelle auf einem Kreisbogensegment auf ihre neue Position mit korrigiertem Z-Wert (Z_t) und Abstand E' zum Nullpunkt. Die neuen X' - und Y' -Koordinaten müssen nun aus den neuen rechtwinkligen Dreiecken (X' , Y' , E') errechnet werden (s. Text). Hinweis: die neuen Koordinaten müssen umgerechnet werden für die Injektionsstelle als Nullpunkt des Koordinatensystems.

Anhang 43: Ermittlung der Kortexschichtendicke des Motorkortex

Kortexschichtbestimmung M1											
Alle Mittelwerte und Messungen in µm-Angaben											
Messungen an den Kortexbildern im Atlas von v.Economo/Koskinas 1925											
	Economo		Fag1		Fag2		Fag3		Fag4 re		Fag4 li
Kortexsch.	Mittelwerte	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung
I	265	8,7	270	7,2	265	7,5	215	8,2	275	10,5	300
II	144	4,7	120	3,2	170	4,8	140	5,3	130	5,0	160
III	972	32,0	1100	29,5	1000	28,4	830	31,5	940	35,8	990
IV	202	6,7	225	6,0	210	6,0	185	7,0	190	7,2	200
V	639	21,1	720	19,3	700	19,9	690	26,2	600	22,9	485
VI	811	26,7	1300	34,8	1180	33,5	575	21,8	490	18,7	510
Summe	3033	100	3735	100	3525	100	2635	100	2625	100	2645
	Economo		Economo Mittelwertangaben*				Amunts*				Galuske
Kortexsch.	Mittelwerte	%	Windungswand	%	Windungskuppe	%	*	%	**	%	Messung
I	265	8,7	200	5,9	180	4,3	5,2	8,7	5	6,6	375
II	144	4,7	0	0,0	0	0,0	3	5,0	3,2	4,3	385
III	972	32,0	1400	41,2	1470	35,4	20	33,3	28	37,2	1515
IV	202	6,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	210
V	639	21,1	700	20,6	800	19,3	18,8	31,3	21,5	28,6	610
VI	811	26,7	1100	32,4	1700	41,0	13	21,7	17,5	23,3	515
Summe	3033	100	3400	100,0	4150	100,0	60	100,0	75,2	100,0	3610
* v.Economo. Koskinas 1925, S.794+7 *Amunts et al 1995, S. 564, ** S. 567 (Die Prozentzahlen wurden aus Grafiken relativer Dickenangaben ermittelt)											
	P4 Ni		P4 Ni 73 1_3		P4 Ni 73 14-18		P4 Ni 74 52-55		P4 Ni 74 192ff		P4 Ni 75 002
Kortexsch.	Mittelwert	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung
I	317,5	13,0	400	13,3	400	16,7	295	18,3	415	16,3	230
II	213	8,7	300	10,0	180	7,5	145	9,0	280	11,0	225
III	761,5	31,2	1045	34,8	735	30,7	395	24,5	600	23,6	1090
IV	108	4,4	200	6,7	140	5,8	15	0,9	70	2,8	145
V	457	18,7	520	17,3	490	20,5	310	19,3	540	21,2	605
VI	575,5	23,6	540	18,0	450	18,8	450	28,0	640	25,1	700
Summe	2442	99,6	3005	100,0	2395	100,0	1610	100	2545	100,0	2995
			P4 Ni 77 25_29		P4 Ni 74 195		P4 Ni 73 183f		P4 Ni 73 161_167		P4 Ni 73 68_71
	Kortexsch.		Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung
	I		240	10,3	315	18,4	320	13,6	350	13,5	210
	II		145	8,4	170	9,9	245	10,4	235	9,1	205
	III		850	34,3	450	26,3	690	29,3	715	27,6	1045
	IV		105	4,5	50	2,9	60	2,5	155	6,0	140
	V		430	18,5	255	14,9	450	19,1	430	16,6	540
	VI		560	24,0	475	27,8	590	25,1	610	23,5	740
	Summe		2330	100	1710	100,3	2355	100,0	2595	100	2880

Tab. 22: Kortexschichtenbestimmung

Anhang 44: Shollringbreitenvergleiche

Entfernung der Zellen vom Injektionsmittelpunkt
Schollanalyse mit verschiedenen Ringbreiten

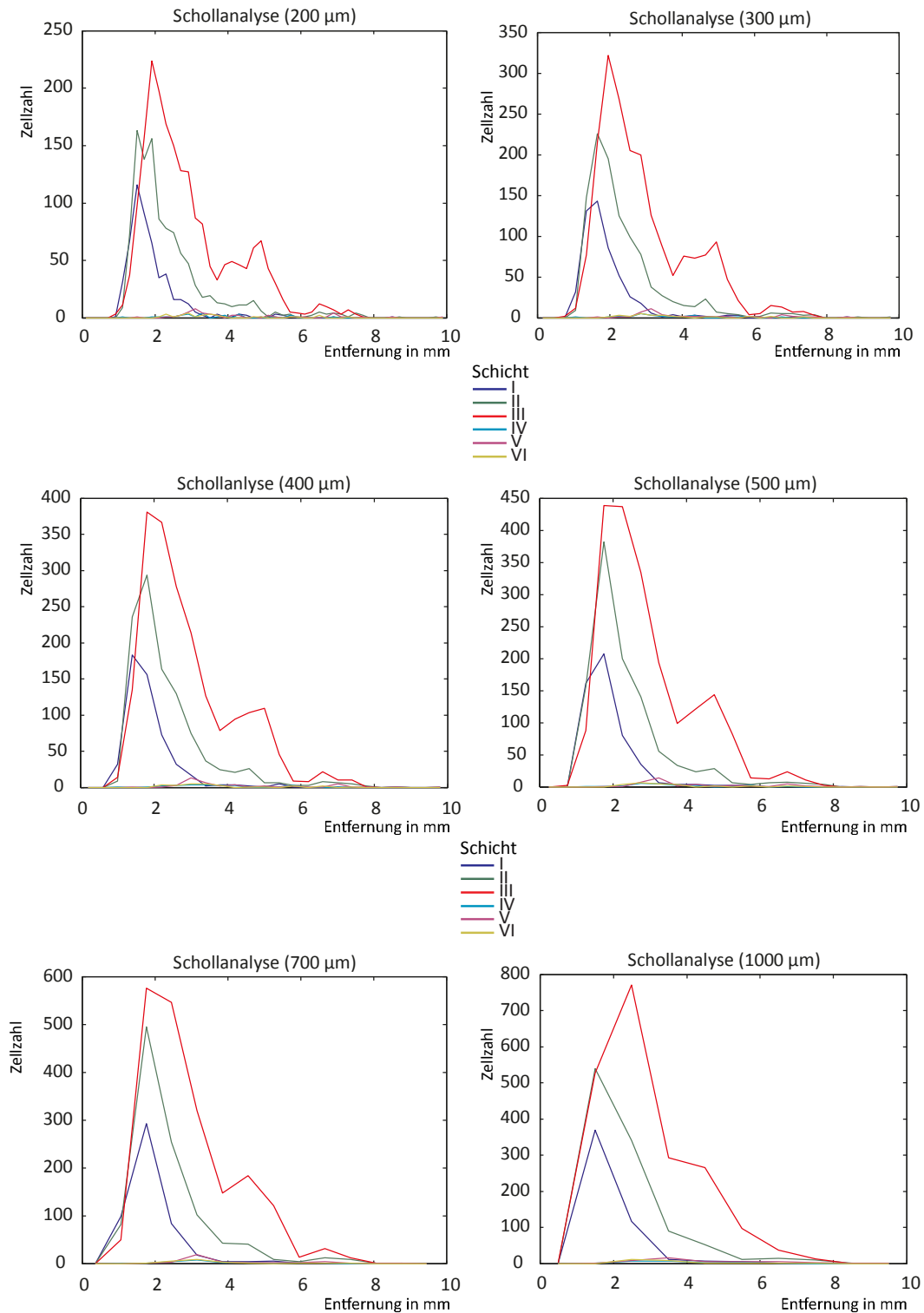


Abb. 101: Schollanalysen der Zellverteilung in den Kortexschichten, normiert auf alle Zellen. Die Grafiken zeigen die Zellverteilung bei verschiedenen Schollringbreiten, d.h. bei unterschiedlicher Summation. Die Schichtzugehörigkeit ist farbkodiert, s. Legende.

Entfernung der Zellen vom Injektionsmittelpunkt Schollanalysen normiert auf die Schichten mit verschiedenen Ringbreiten

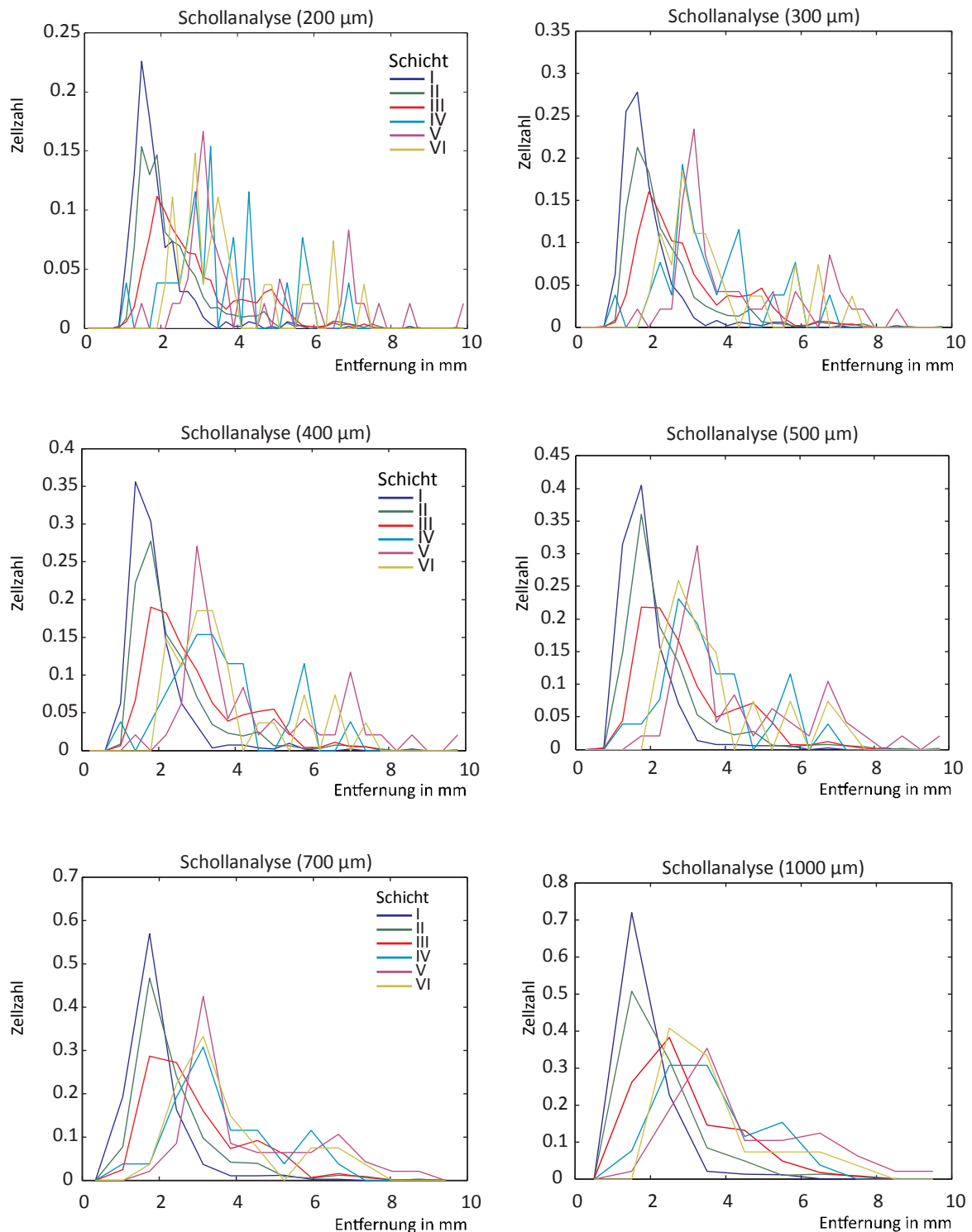


Abb. 102: Schollanalysen der Zellverteilung in den Kortexschichten, normiert auf die Schichten. Die Schollringbreite von 400 μm wurde ausgewählt, weil die Zellverteilung ausreichend differenziert und zugleich übersichtlich dargestellt wird. Die Schichtzugehörigkeit ist farbkodiert, s. Legende.

Entfernung der Zellen vom Injektionsmittelpunkt Schollanalysen normiert auf die Schollringe mit verschiedenen Ringbreiten

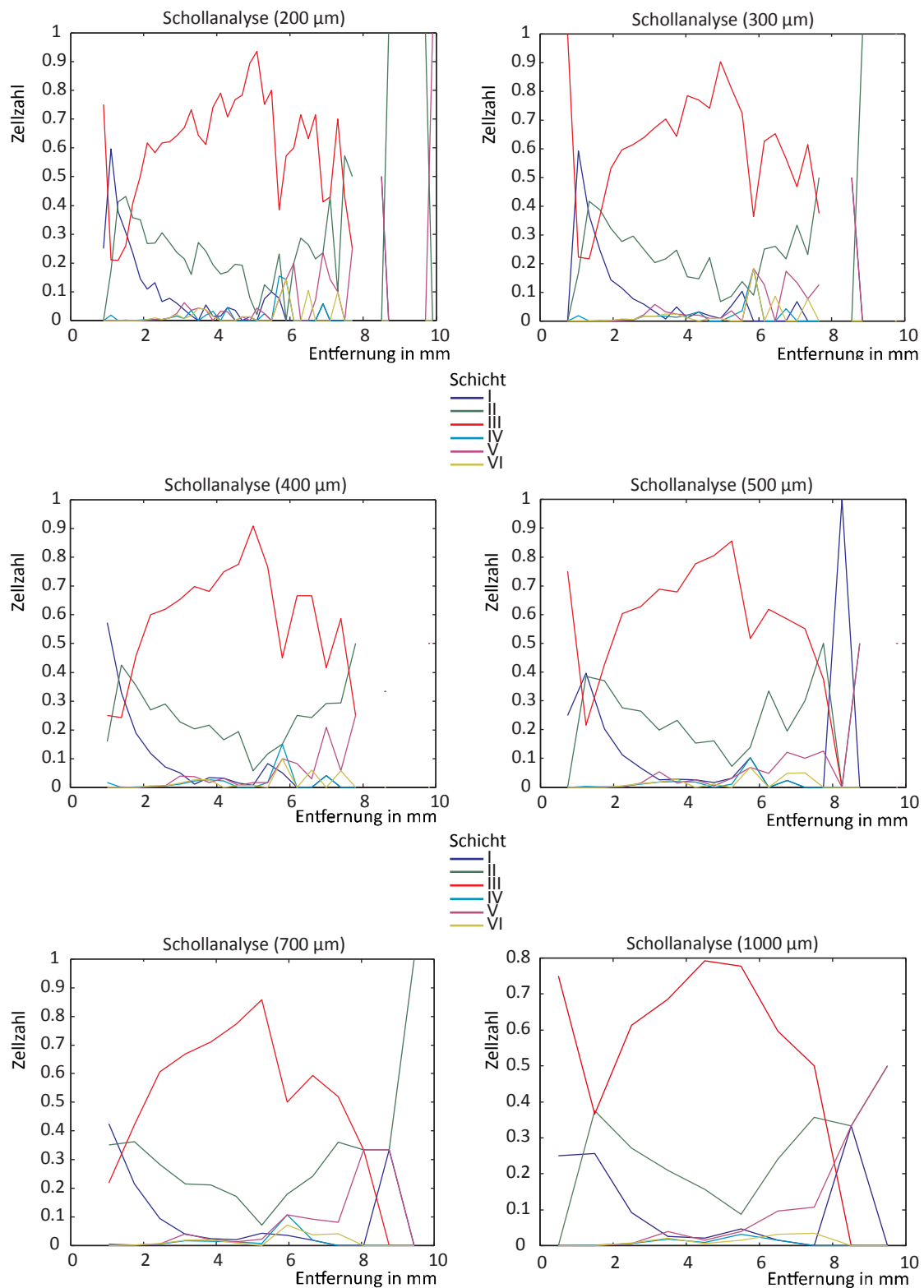
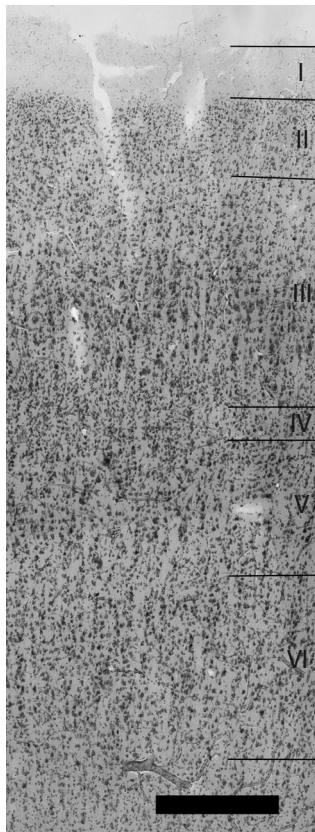


Abb. 103: Schollanalysen der Zellverteilung in den Korterschichten, normiert auf die Schollringe. Die Schollringbreite von 400 µm erweist sich als geeignet, die Relationen der Schichten übersichtlich zu zeigen und keine irritierenden Enden zu produzieren, wie sie bei den übrigen Breiten in den Graphen durch Einzelwerte entstehen. Die Schichtzugehörigkeit ist farbkodiert, s. Legende.

Anhang 45: Übersicht über die M1-Arealnachweise der Gewebe



In der Regel wurden Nisslfärbungen einiger Schnitte angefertigt. Die Färbungen fielen sehr unterschiedlich aus. In der folgenden Tabelle sind alle Gewebe aufgeführt und die Art der Nachweise benannt. Horizontale Schnitte sind mit mC (motorischer Kortex) gekennzeichnet, vertikale mit smC (sensomotorischer Kortex).

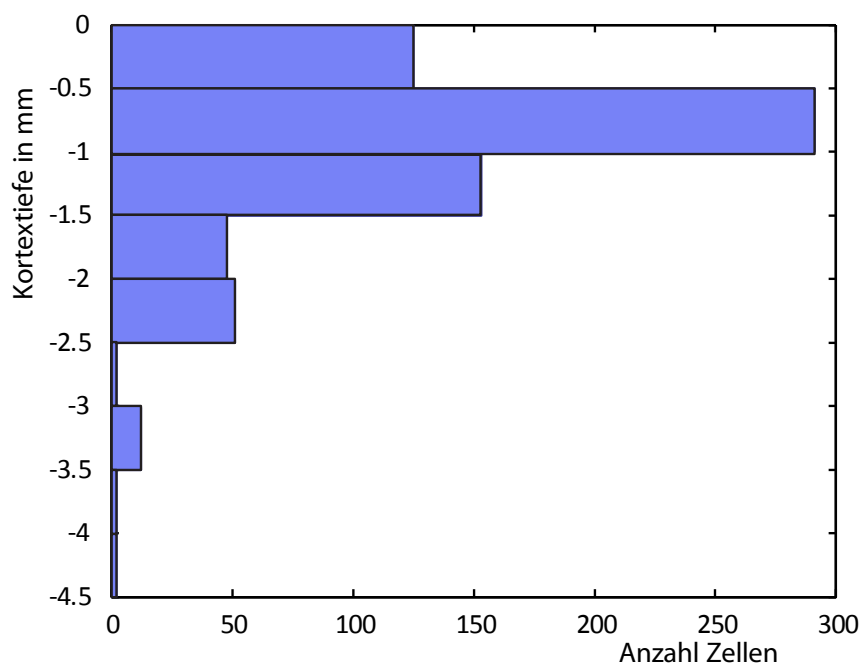
P1 smC	Bestätigungsbild vorhanden, schwache Färbung
P2 mCr	Keine Nissl-Bilder, durch die linke Seite bestätigt
P2 smCl	Bestätigung M1, Bilder nicht sehr gut, aber Riesenzelle nachweisbar
P3 mCl	Geprüft ohne Dokumentation
P4 mCr	Bestätigung M1
P4 smCl	Keine Nissl-Bilder, durch die rechte Seite bestätigt
P5 smCr	Bestätigung M1, mit prämotorischem Kortex
P6 smCr	Schwache Färbung, nicht auswertbar
P7 smCl	Bestätigung M1
P8 mCr	Bestätigung prämotorischer Kortex

Tab. 23: Nachweise der Gewebeareale

Abb. 104: Nachweis des Areals des primären Motorkortex
Nisslfärbung des Gewebes P4. Die Schichten sind mit römischen Zahlen gekennzeichnet. Messbalken 500 µm.

Anhang 46: Die Tiefenverteilung der Zellen in dem Gewebe P2

Das Gewebe erschien eben und wurde rechnerisch nicht eingeebnet. Es fanden sich folgende Werte:



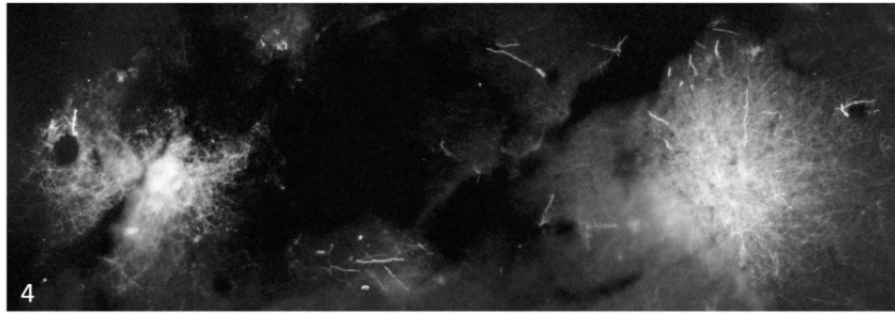
Ergebnisse der Zellverteilung in der Tiefe im Gewebe P2
Das Gewebe erschien eben und wurde rechnerisch nicht eingeebnet. Das Bild der Zellverteilung ähnelt der Grafik der Daten von Gewebe P4.

Anhang 47: Patchdurchmesser und Flächeninhalte

Patch-Größen M1

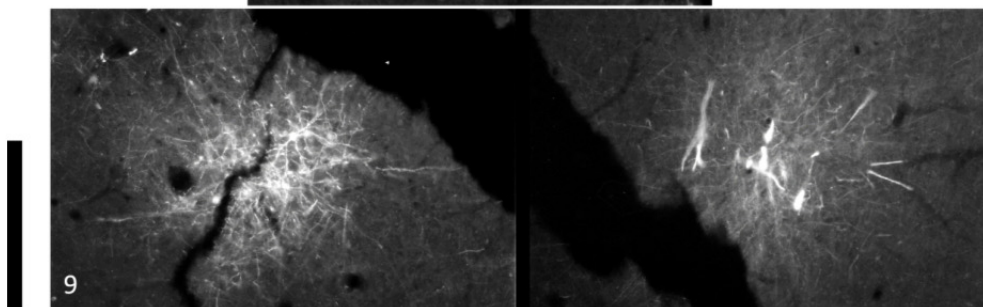
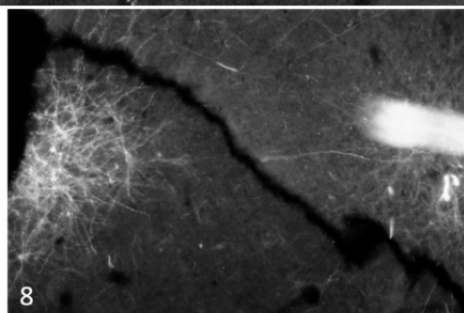
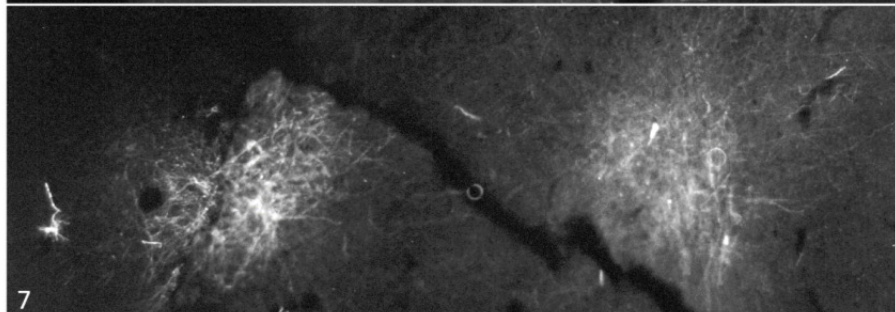
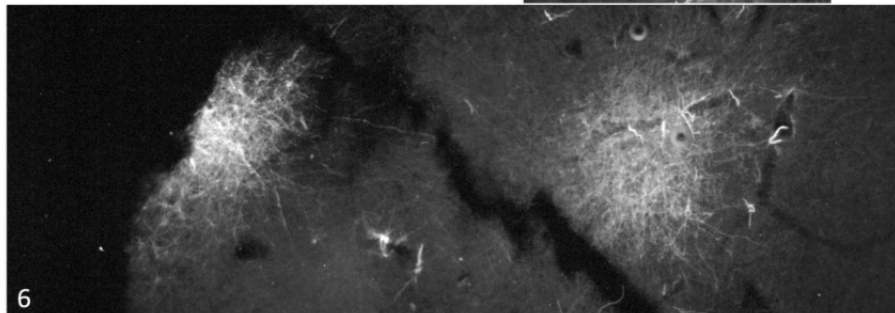
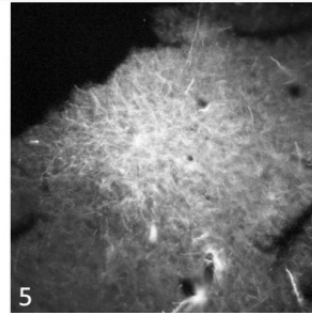
Schnitt Nr.	Fläche (µm²)	Durch- messer max. in µm	Durch- messer min. in µm	Schnitt Nr.	Fläche (µm²)	Durch- messer max. in µm	Durch- messer min. in µm	Ge- webe Nr.	Fläche (µm²)	Durch- messer max. in µm	Durch- messer min. in µm
15	829157	1197	956,3	21	280146	745,4	473,7	P4	134693	448	383
15	309264	704,6	577,5	22	98821	492,1	281,3		250885	623	513
15	444889	854,2	669,2	22	113097	435,8	332		278086	650	545
15	212392	678,3	423,4	22	67324,8	382,4	235		121521	458	338
15	494900	950,4	767,8	22	361861	752,6	634,5		191527	552	442
17	99081	404,3	320,9	22	271062	719,4	488,9		130561	495	336
17	733501	1396,9	832,3	22	963843	1457,5	896,6		375965	1048	457
17	184547	514,5	463	22	440861	1118,9	558,2		261641	660	505
17	166627	509,6	420,7	22	100728	460,9	296,6		533383	859	791
17	462386	900,3	614,6	22	92519,7	367,3	327,3	P2	347068	675	655
17	324355	1305,8	327,9	22	186922	564,7	449		344419	675	650
18	128567	544,4	321,1	25	249092	624,7	493,9		469901	820	730
18	523059	941,2	758	25	109203	432,9	346,7		403058	815	630
18	189712	588,9	426,5	25	189441	613,6	402,7		435204	770	720
18	211970	604,8	469,2	25	362711	844,5	555,2		409378	745	700
18	487434	925,5	717,2	25	83177,4	414,8	268,8		409731	730	715
18	190693	665,3	354,7	25	561653	1020,6	798,3		356076	720	630
18	144777	517,8	385,3	25	267574	674,7	508,4		418327	730	730
19	111704	432,4	320	25	192759	552,5	431,5		360276	685	670
19	211154	648,6	433,9	25	692009	1168	969,2		386809	730	675
19	623930	952,4	825,6	25	125903	477,2	353,5		259521	580	570
19	245954	807,2	380	25	897551	1403,2	1003,5		321536	640	640
19	127283	542,2	301,2	30	138685	504,1	338,2		483560	880	700
19	41114,3	273,1	195,7	30	123383	477,6	318,5		373248	715	665
20	230853	682	457,9	30	500846	1144,4	583,5		286368	640	570
20	159721	550,3	380,6	30	214849	730,8	393,6		387358	710	695
20	549627	1049,7	712,7	30	736514	1340,1	914,1		349757	670	665
20	123155	461,9	363	30	165592	511	435,7		257166	630	520
20	124542	449,7	358,5	30	59364	292,6	266,1		153075	520	375
20	1123470	1549,9	1014,8	35	165081	496,8	424,6		186163	510	465
20	164569	477	443,5	35	241830	640,1	469,6		240838	590	520
20	368248	803,9	590,1	35	133794	557,5	332,7		369931	725	650
20	139308	496,7	398,8	40	144442	484,9	411,9		173407	470	470
20	594484	1008,8	809,8	Durchschnitt:					<u>305879</u>	<u>703</u>	<u>528</u>
21	121116	468,1	332,9								
21	431098	914	642,2								
21	200402	675,4	397,8								
21	189299	569,2	413,3								

Tab. 24: Patchdurchmesser und -fläche



Anhang 48: Bilder zweier benachbarter Patches

Abb. 105: Bilderauswahl zweier Patches



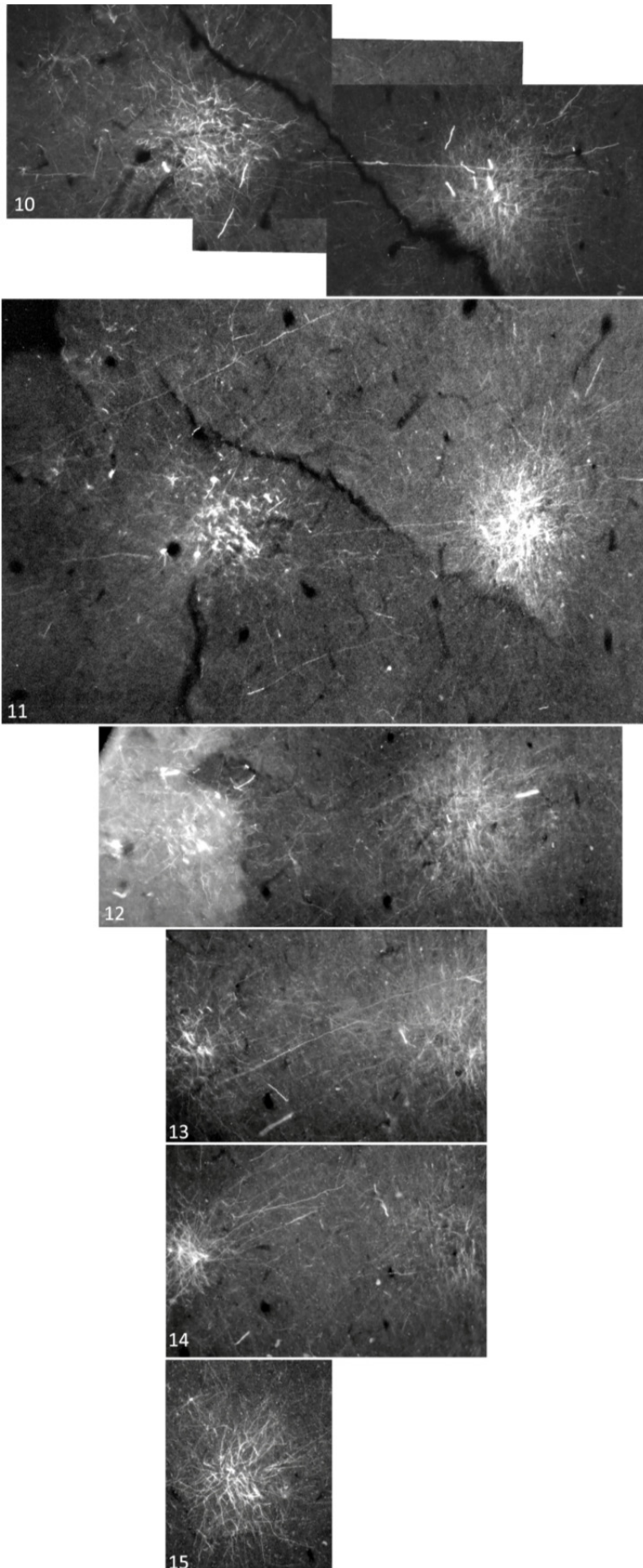


Abb. 106: Bild zweier Patches

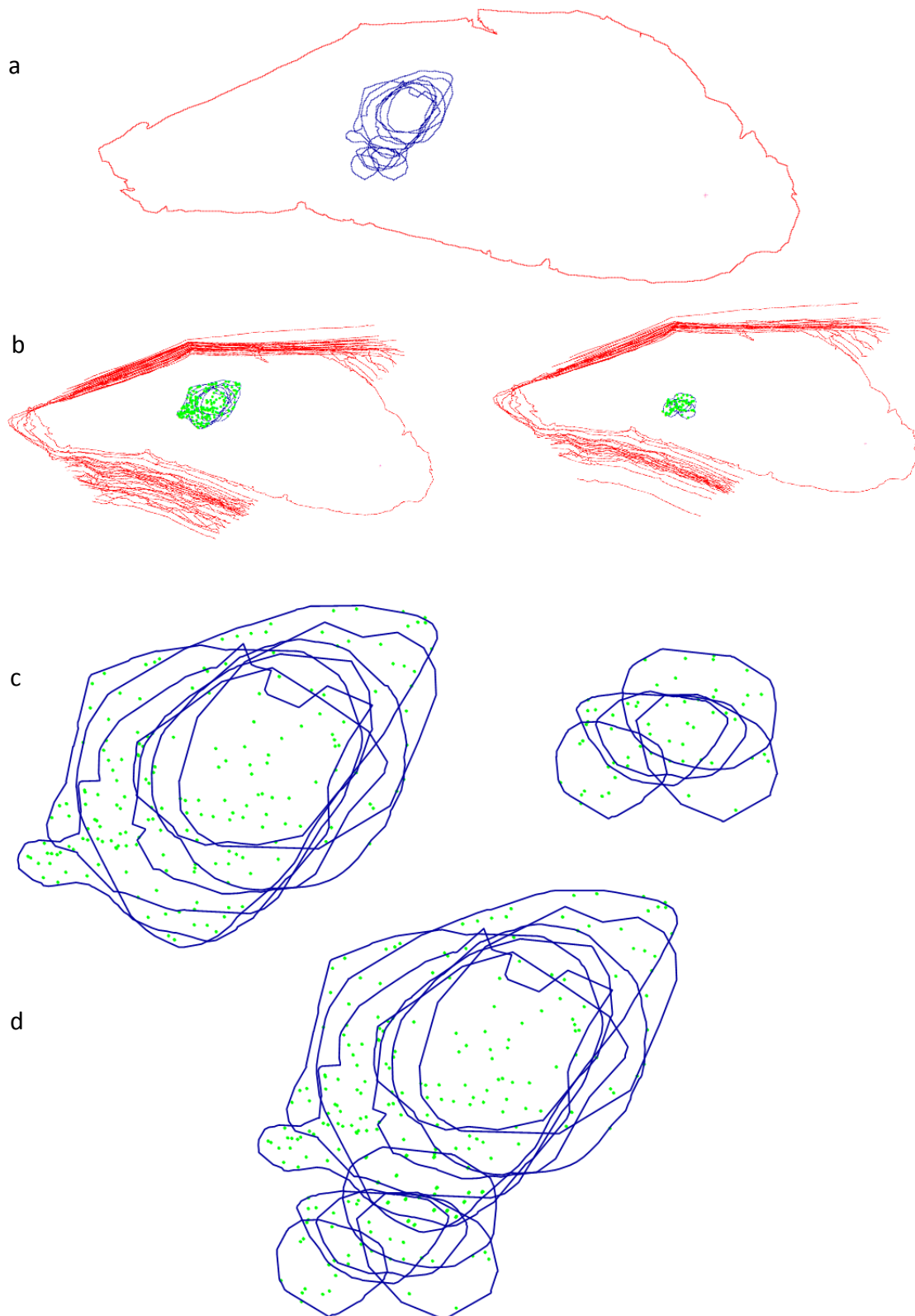
Fotodokumentation der in den Schnitten 4 – 15 des Gewebes P2 gefundenen Patche. Einzelbilder sind der jeweiligen Patchsäule zugeordnet.

Messbalken 500 μm

Anhang 49: Zeichnungen des Auswahlpatches

Abb. 107: Auswahlpatch mit Aufgliederung der vergrößerten Patche

a) Übersicht: Schnittkontur (rot), eingezeichnete Patches (blau). b) Zeichnungen der aufgeteilten Patche mit Zellmarkern (grün). Die roten Linien markieren die einzelnen Schnittkonturen. c) Vergrößerung der aufgeteilten Patches mit Zellmarkern. d) Gesamtauswahlpatch mit Zellmarkern. Deutlich sind die Überlappungen der Patches in verschiedenen Schnitten zu sehen.



Anhang 50:

Varianz der Durchmesser und Flächen in einer Patchgewebesäule

Tab. 25: Varianz der Patchdurchmesser innerhalb einer Patchsäule

P2 Patch- durchmesser in μm	Vergleichspatches				P4 Auswahlpatch Durchmesser		Auswahlp. groß Durchmesser		Auswahlp. klein Durchmesser	
	Durch max	messer min	Durch max	messer min	max	min	max	min	max	min
	675	655	675	650	1197	956,3	1197	956	404	321
	745	700	820	730	404	321	1397	832	544	321
	720	630	770	720	1397	832	941	758	542	301
	685	670	730	715	544	321	952	826	550	381
	580	570	730	730	941	758	1050	713	569	413
	880	700	730	675	952	826	914	642		
	640	570	640	640	542	301	1458	897		
	670	665	715	665	550	381				
	520	375	710	695	1050	713				
	590	520	630	520	914	642				
	725	650	510	465	569	413				
			470	470	1458	897				
Durchschnitt	610	675	640	678	877	613	1130	803	522	347
Standardabw	92	92	94	98	341	239	208	100	60	42
Verhältnis : 1	6,6	7,3	6,8	6,9	2,6	2,6	5,4	8,1	8,8	8,2
in %	15	14	15	14	39	39	18	12	11	12

Anhang 51: Volumenberechnung von Patches

Patchgrößen P2 anhand von Bildern (Vergleichspatches)								
	Durch messer		1		2		Durch messer	
Schnitt	klein	groß	Volumen	Fläche	Fläche	Volumen	klein	groß
4 li	655	675	24307091	347244				
4 re					344593	24121541	650	675
5 re			23021609		470139	32909754	730	820
6 re			23021609		435425	30479732	720	770
7 li	700	745	28670960	409585				
7 re					409939	28695700	715	730
8 li	630	720	24937962	356257				
8 re					418539	29297708	730	730
9 li	670	685	25232094	360458				
9 re					387005	27090346	675	730
10 li	570	580	18175684	259653				
10 re					321699	22518936	640	640
11 li	700	880	33866369	483805				
11 re					373437	26140603	665	715
12 li	570	640	20055928	286513				
12 re					387555	27128831	695	710
13 li	665	670	24495391	349934				
13 re					257296	18010751	520	630
14 li	375	520	10720685	153153				
14 re					186257	13038002	465	510
15 li	520	590	16867211	240960		24298043		
16 li	650	725	25908322	370119				
16 re					173494	12144612	470	470
Durchschnitt	609,5	675,5		328880	347115		639,6	677,5
Volumen	li Patch		299280915		re Patch	315874559		
			= 0,3 mm ³			= 0,32 mm ³		

Tab. 27: Volumenberechnung anhand von Bildern zweier Patches (P2)

Vgl. Abb. 105 und 106

Legende:

Die Schnittdicke beträgt 70 µm,

die Patchflächen wurden errechnet aus der Ellipsengleichung (πab , große und kleine Halbachse = halbe Durchmesser),

das Volumen eines Schnittpatches aus Ellipsenfläche mal Schnittdicke ($\pi ab \mu\text{m}^2 \times 70 \mu\text{m}$),

das Volumen des Patches aus der Summe der Schnittpatchvolumen,

die Patchtiefe aus Schnittanzahl mal Schnittdicke ($16 \times 70 = 1120 \mu\text{m}$).

Tab. 28: Volumenberechnung des Auswahlpatches (P4)

Auswahlpatch P4 gesamt						
	Tiefe	e Gewebesäule	je Schnitt		Durch	messer
Name	in μm	Zellkörper	Zellkörper	Fläche (μm²)	Max(μm)	Min(μm)
	-1000		2	446427		
	-1100			446427		
	-1200			446427		
	-1300			446427		
	-1400			446427		
patch	-1500	135	19	829157	1197	956
	-1600			446427		
patch	-1700	16	6	99081	404	321
patch	-1700	136	22	733502	1397	832
patch	-1800	27	9	128566	544	321
patch	-1800	77	6	522015	941	758
patch	-1900	66	6	623929	952	826
patch	-1900	25	2	127283	542	301
patch	-2000	22	4	159722	550	381
patch	-2000	60	3	549627	1050	713
patch	-2100	52	2	431098	914	642
patch	-2100	30	1	189299	569	413
patch	-2200	149	11	963844	1458	897
Mittelwert		66	7,6	446427	877	613
Standardabwe		46	6,4	67344	341	239
Volumen Auswahlpatch gesamt				803568513 = 0,8 mm ³		
Auswahlpatch P4 klein					Durch	messer
Name	Tiefe in	Zellkörper	Zellkörper	Fläche (μm²)	max (μm)	min (μm)
Contour	-1000	58	0	24631300	9894	3710
patch	-1700	16	6	99081	404	321
patch	-1800	27	9	128566	544	321
patch	-1900	25	2	127283	542	301
patch	-2000	22	4	159722	550	381
patch	-2100	30	1	189299	569	413
Durchschnitt		24	4,4	140790	522	347
Standardabwe		4,8	2,9	30929	60	42
Volumen Auswahlpatch klein				70395120 = 0,07 mm ³		

Auswahlpatch P4 groß						
Name	Tiefe i.	Zellkörper		Fläche(µm²)	Durch	messer
Contou	-1000	189	2	664739	max	min
	-1100			664739		
	-1200			664739		
	-1300			664739		
	-1400			664739		
patch	-1500	135	19	829157	1197	956
	-1600			664739		
patch	-1700	136	22	733502	1397	832
patch	-1800	77	6	522015	941	758
patch	-1900	66	6	623929	952	826
patch	-2000	60	3	549627	1050	713
patch	-2100	52	2	431098	914	642
patch	-2200	149	11	963844	1458	897
Durchschnitt		9,9		664739	1130	803
Standardabw		7,3		173658	208	100
Volumen Auswahlpatch groß				864160585,7 = 0,864 mm ³		

Tab. 29: Zellzahlen in dem Auswahlpatch

Auswahlpatch							
	Tiefe	Zellkörper je	je Schnitt	Umfang	Fläche	Durchmesser	Durchmesser
Name	in µm	Gewebesäule	Zellkörper	in µm	in µm²	Max(µm)	Min(µm)
Contour	-1000	230	2	25579	24631300	9893,7	3710,4
patch	-1500	135	19	3381	829157	1197,0	956,3
patch	-1700	16	6	1157	99081,2	404,3	320,9
patch	-1700	136	22	3852	733502	1396,9	832,3
patch	-1800	27	9	1390	128566	544,4	321,1
patch	-1800	77	6	2724	522015	941,2	758,0
patch	-1900	66	6	2842	623929	952,4	825,6
patch	-1900	25	2	1366	127283	542,2	301,2
patch	-2000	22	4	1483	159722	550,3	380,6
patch	-2000	60	3	2770	549627	1049,7	712,7
patch	-2100	52	2	2443	431098	914,0	642,2
patch	-2100	30	1	1586	189299	569,2	413,3
patch	-2200	149	11	3866	963844	1457,5	896,6
Mittelwert nur		66,3	7,6	2405	446427	877	613
Standardabwei		46,4	6,4	948	291057	341	239

Es wurden alle Zellen innerhalb der Patches sowie in den Gewebesäulen über und unter den Patchkonturen in die Zählung einbezogen. Insgesamt lagen in der Gewebesäulen der Patches 230 Zellen. In einer Gewebesäule über, in und unter einem einzelnen Patch waren es maximal 149 Zellen (Durchschnitt 66 Zellen), innerhalb eines einzelnen Patches maximal 22 Zellen (Durchschnitt 8 Zellen).

Anhang 52: Datentabelle zum Vergleich von Patches und Dendritenfeldern

Die Datentabelle für die Patches s. Anhang 45, Tab. 24

Dendritenfeldvermessungen									
	µm	µm	µm						
Schnitt-Nr.	längster	Durch-	zweitläng.	Fläche ca.	Anzahl der Dendritenabzweigungen				
	Dendrit	messer	Dendrit	in µm ²	1. Abzweig	2.Abzw	3.Abz	4. Abz	5.Abz
P2 mCr 18	240	420	180	135717	6	2	1	0	0
P2 mCr 18 b	200	350	150	94248	6	4	0	0	0
P2 mCr 19 a	230	370	140	101159	4	3	4	0	0
P2 mCr 19 b	330	630	300	311018	3	4	1	0	0
P2 mCr 19 c	210	390	180	118752	4	3	0	0	0
P2 mCr 19 d	290	490	200	182212	6	4	5	2	0
P2 mCr 19 e	225	435	210	148440	3	3	2	0	0
P2 mCr 19 f	250	410	160	125664	4	6	2	0	0
P2 mCr 19 g	270	530	260	220540	6	2	0	0	0
P2 mCr 25 a	290	570	280	255097	6	5	3	0	0
P2 mCr 25 b	270	380	110	93305	3	1	1	0	0
P2 mCr 25 c	160	290	130	65345	3	2	1	1	0
P2 mCr 25 d	170	270	100	53407	2	0	0	0	0
P2 mCr 25 e	220	390	170	117496	6	5	1	0	0
P2 mCr 26 a	250	475	225	176715	5	2	0	0	0
P2 mCr 26 b	240	440	200	150796	4	6	4	0	0
P2 mCr 26 c	240	470	230	173416	4	4	0	0	0
P2 mCr 26 d	220	400	180	124407	4	1	0	0	0
P2 mCr 26 e	500	780	280	439823	3	2	2	0	0
P2 mCr 30 a	200	390	190	119381	4	4	4	4	0
P2 mCr 05 a	250	490	240	188496	4	6	6	4	1
P3 mCli 45 a	280	540	260	228708	6	5	3	0	0
P3 mCli 50 a	280	530	250	219911	5	6	2	1	0
P3 mCli 50 b	170	330	160	85451	4	5	1	0	0
P3 mCli 15 a	240	480	240	180956	5	5	2	1	0
P3 mCli 25 a	320	590	270	271434	5	5	2	1	0
P3 mCli 36 a	360	690	330	373221	4	5	2	0	0
P3 mCli 37 a	375	645	270	318086	7	6	2	1	0
P3 mCli 37 b	260	380	120	98018	4	2	0	0	0
P3 mCli 42 a	220	350	130	89850	6	6	5	2	0
Durchschnitt	258,7	463,5	204,8	175369	4,5	3,8	1,9	0,6	0,03
Standardabw.	67,5	117,8	60,3	92268					

Tab. 30: Dendritenvermessungen, Durchmesser, Fläche, Verzweigungen

Anhang 54: Boutondichte (M1)

Boutondichte, gemessen an nackten Axonen						Boutondichte		
						arith.Mittel	Stabw.	
						7,2	+/-2,9	
Entferng.	Tiefe	Bouton	Entferng.	Tiefe	Bouton	Entferng.	Tiefe	Bouton
in μm	(Z) in μm	Dichte	in μm	(Z) in μm	Dichte	in μm	(Z) in μm	Dichte
3239	-2716	2,4	2680	-332	5,8	5575	-1903	10,0
3417	-3571	2,5	7855	-971	5,8	7417	-1697	10,0
2680	-598	2,9	7406	-1805	5,9	5575	-591	10,1
3327	-3499	2,9	3922	-1283	6,1	3996	-104	10,1
9961	-2625	3,1	7087	-1454	6,1	3188	-92	10,3
8621	-1948	3,1	2096	-1600	6,2	4515	-2524	10,5
3363	-3486	3,2	2409	-253	6,3	2925	-320	10,7
8808	-1824	3,3	4217	-632	6,5	6540	-558	10,8
7286	-1799	3,5	7007	-1630	6,5	7599	-546	11,0
7260	-1097	3,6	7349	-926	6,5	2697	-300	11,1
1764	-123	3,7	5575	-2986	6,5	3485	-25	11,4
3174	-2558	3,7	7875	-1703	6,5	7687	-1736	11,6
8383	-2200	3,8	7385	-1646	6,6	4515	-1017	11,7
9008	-1715	3,9	4587	-264	6,6	5705	-250	11,7
8813	-1861	4,0	7309	-1046	6,7	3722	-39	11,8
7480	-888	4,0	7183	-1248	6,8	5110	-1000	11,9
9045	-2832	4,0	5575	-1666	6,9	4632	-1090	12,0
8543	-1432	4,1	4257	-1214	7,1	5858	-340	12,5
8808	-1359	4,2	3960	-660	7,4	3189	-1000	13,2
3241	-3230	4,3	2680	-931	7,4	7206	-1000	13,3
7454	-741	4,5	5575	-2601	7,4	1509	-600	14,4
9766	-1147	4,7	2680	-319	7,8	8368	-1455	14,7
2096	-1600	4,7	2493	-47	8,0			
3015	-3239	4,8	2680	-1153	8,0			
4704	-224	4,8	8225	-879	8,1			
7515	-1616	4,9	7773	-357	8,2			
5858	-3682	4,9	2928	-55	8,3			
7309	-740	5,0	4332	-1437	8,6			
4101	-659	5,0	5858	-300	8,6			
6961	-2075	5,1	5700	-380	8,6			
4260	-348	5,3	4417	-295	8,7			
8502	-1998	5,4	2543	-2430	8,8			
3839	-650	5,5	2041	-24	8,8			
4088	-1249	5,6	3194	-1600	8,8			
7135	-1904	5,6	4515	-269	9,1			
5858	-2347	5,6	8038	-773	9,1			
2680	-701	5,6	5119	-1043	9,6			
7532	-1735	5,6	2680	-217	9,6			
6883	-1805	5,7	5561	-660	9,6			
5156	-962	5,7	5705	-527	9,6			
7439	-1721	5,7	4515	-1721	9,8			
6942	-2140	5,7	5705	-1020	9,8			
8655	-1424	5,8	6246	-190	9,9			
4825	-218	5,8	5460	-254	10,0			

Tab. 31: Boutondichte in M1 (P4), Daten zu Entfernung von der Injektionsstelle und Kortextiefe

Anhang 55: Boutondichte in M1

Tab. 32: Boutondichte an "nackten" Axonen im Motorkortex in μm (gleiche Farbe gleiches Axon)

	Bouton- anzahl	Axonlänge	Boutondichte	Entferng v. Injektionsst	Entferng z.Oberfl.
208	7	165	4,2	8808	1359
209	8	139	5,8	8655	1424
210	4	97	4,1	8543	1432
211	8	203	3,9	9008	1715
212	8	241	3,3	8808	1824
213	4	127	3,1	8621	1948
214	10	186	5,4	8502	1998
215	3	80	3,8	8383	2200
219	14	214	6,5	7875	1703
220	15	129	11,6	7687	1736
221	9	160	5,6	7532	1735
222	13	197	6,6	7385	1646
223	12	235	5,1	6961	2075
224	15	269	5,6	7135	1904
225	5	142	3,5	7286	1799
226	13	229	5,7	7439	1721
227	26	287	9,1	8038	773
228	10	171	5,8	7855	971
230	16	283	5,7	6883	1805
231	9	139	6,5	7007	1630
232	16	261	6,1	7087	1454
233	13	190	6,8	7183	1248
234	5	137	3,6	7260	1097
235	14	216	6,5	7349	926
236	9	202	4,5	7454	741
237	27	245	11,0	7599	546
238	20	245	8,2	7773	357
250	6	114	5,3	4260	348
251	17	196	8,7	4417	295
252	9	136	6,6	4587	264
253	4	83	4,8	4704	224
254	12	208	5,8	4825	218
300	15	211	7,1	4257	1214
301	9	162	5,6	4088	1249
302	10	165	6,1	3922	1283
303	7	128	5,5	3839	650
304	10	136	7,4	3960	660
305	6	119	5,0	4101	659
306	9	139	6,5	4217	632
Nr.	Bouton- anzahl	Axonlänge	Boutondichte Mittelwert 5,9 \pm 1,9	Entferng v. Injektionsst	Entferng z.Oberfl.

Mittelwert der Boutondichte gesamt 7,2 \pm 1,85

Anhang 56: Kortexschichtdicken

Die folgenden Maße für die Kortex- und Schichtdicken wurden anhand eigener Messungen an benachbarten Teilen des untersuchten Gewebes festgelegt (vgl. Abb. 25). Zum Vergleich werden in der unteren Tabelle Daten von v. Economo und Koskinas (1925) wiedergegeben (Messungen in μm).

Prämotorischer Kortex: Schichtdicken														
			P 8 verschiedene Nisslschnitte											
Schichten	Mittelwerte	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%
I	307	11	270	10	320	14	470	15	340	11	250	12	190	6
II	188	7	130	5	235	11	215	7	190	6	200	9	160	5
III	1183	43	1260	46	980	44	1170	38	1225	38	915	42	1550	48
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V	399	14	500	18	250	11	385	13	480	15	300	14	480	15
VI	697	25	590	21	440	20	835	27	955	30	500	23	860	27
Summe	2774	100	2750	100	2225	100	3075	100	3190	100	2165	100	3240	100
	Economo		FB1		FB1		FB2		FB2		FB3		FB3	
Schichten	Mittelwerte	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%	Messung	%
I	261	9	200	6	225	7	350	11	310	11	280	11	200	7
II	169	6	150	4	200	6	130	4	240	8	130	5	165	6
III	1120	38	1080	30	1120	36	1200	39	1100	39	1150	47	1070	38
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V	441	15	465	13	590	19	500	16	400	14	260	11	430	15
VI	993	33	1650	47	1010	32	930	30	800	28	650	26	920	33
Summe	2984	100	3545	100	3145	100	3110	100	2850	100	2470	100	2785	100

Anhang 57: Volumina einzelner Patchsäulen (prämotorischer Kortex)

Volumina einzelner Patchsäulen aus dem prämotorischen Kortex P8													
Tiefe (Ober- kante d. Schnitts) in μm	Fläche in μm^2	max. Durch- messer in μm	min. Durch- messer in μm	Zellen in Säule über u. unter Patch	Zellen im Patch	Zellen außer- halb der Patche	Patch- volumen in μm^3	Zellen im Volum .	Entferng. z. nächst. Zelle Durch- schnitt	naheste nächste Zelle in μm	weiteste nächste Zelle in μm	alle Zellen, Durch- schnitt Entferng. in μm	
Durchsch	490477	967,0	641,7	33,6	5,3	Summe:	618001555	61	143,2	53,7	580,1	592,5	
Patch 1													
-140	487358					1	34115083						
-210	487358					-	34115083						
-280	487358					-	34115083						
-350	487358					1	34115083						
-420	487358					4	34115083						
-490	487358					-	34115083						
-560	186807	649	357,3	20	2	1	13076490						
-630	487358					1	34115083						
-700	195586	566,4	456,1	19	2	2	13691020						
-770	446823	992,5	532,3	24	4	2	31277610						
-840	410418	1041,7	606,2	31	7	1	28729260						
-910	693650	1246,8	747,1	41	5	-	48555500						
-980	931447	1268,2	1002,1	53	8	-	65201290						
-1050	602921	1004,1	790,8	47	9	-	42204470						
-1120	487358					4	34115083						
-1190	487358					3	34115083						
-1260	487358					2	34115083						
-1330	487358					2	34115083						

Tiefe (Ober- kante d. Schnitts) in µm	Fläche in µm ²	max. Durch- messer in µm	min. Durch- messer in µm	Zellen in Säule über u. unter Patch	Zellen im Patch	Zellen außer- halb der Patche	Patch- volumen in µm ³	Zellen im Volum .	Entferng. z. nächst. Zelle Durch- schnitt	naheste nächste Zelle in µm	weiteste nächste Zelle in µm	alle Zellen, Durch- schnitt Entferng. in µm
Patch 2												
Durchsch	223944	646,1	437,2	27,7	3,4	Summe:	389994164	90	122,3	31,3	488,4	571,8
-560	221855					2	15529870					
-630	221855					1	15529870					
-700	221855					3	15529870					
-770	198084	541,6	478,1	25	2		13865880					
-840	437048	938,6	574,1	54	6		30593360					
-910	177980	589,8	380,6	25	0		12458600					
-910	87986	422,2	263,2	11	3		6159020					
-910	231228	798,7	359,4	27	5	1	16185960					
-980	213620	619,6	443,1	25	1	11	14953400					
-1050	221754					11	15522766					
-1120	229048	606,4	504,3	25	4		16033360					
-1120	266118	646,4	553,9	32	7		18628260					
-1190	221855					8	15529870					
-1260	304362	863,3	473,4	41	6	1	21305340					
-1330	210356	665	418,5	32	4	1	14724920					
-1400	108568	435,6	322,4	12	1	3	7599760					
-1470	222930	626,3	475,3	23	2	1	15605100					
-1540	221855					1	15529870					
-1610	221855						15529870					
-1680	221855						15529870					
-1750	221855						15529870					
-1820	221855						15529870					
-1890	221855						15529870					
-1960	221855						15529870					
-2030	221855					1	15529870					
Patch 3												
Durchsch	175570	581,7	395,7	17,0	3,3	Summe:	137742741	23	136,7	66,5	293,1	350
-770	180782					1	12654734					
-840	180782					1	12654734					
-910	180782						12654734					
-980	150548	509,9	388,1	17	1		10538360					
-1050	180782					2	12654734					
-1120	203416	595,2	439,4	18	6	1	14239120					
-1190	180782					3	12654734					
-1260	103440	493,7	298,3	14	2		7240800					
-1330	244876	728,1	456,8	19	4		17141320					
-1400	180782					1	12654734					
-1470	180782					1	12654734					

Fortsetzung auf Seite 196

Anhang 58: Zeichnungen von Dendritenfeldern (P8)

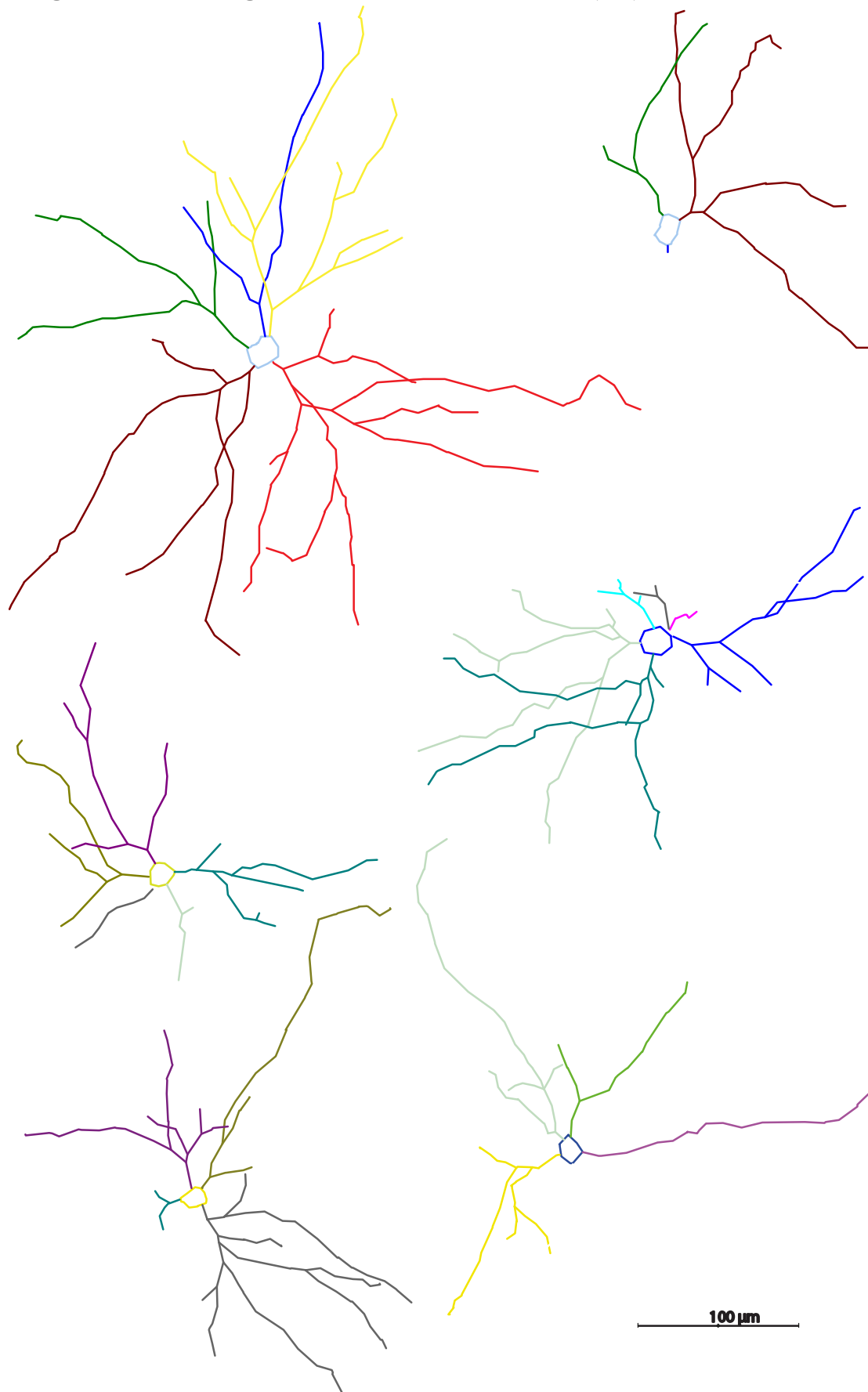


Abb. 108: Dendritenzeichnungen

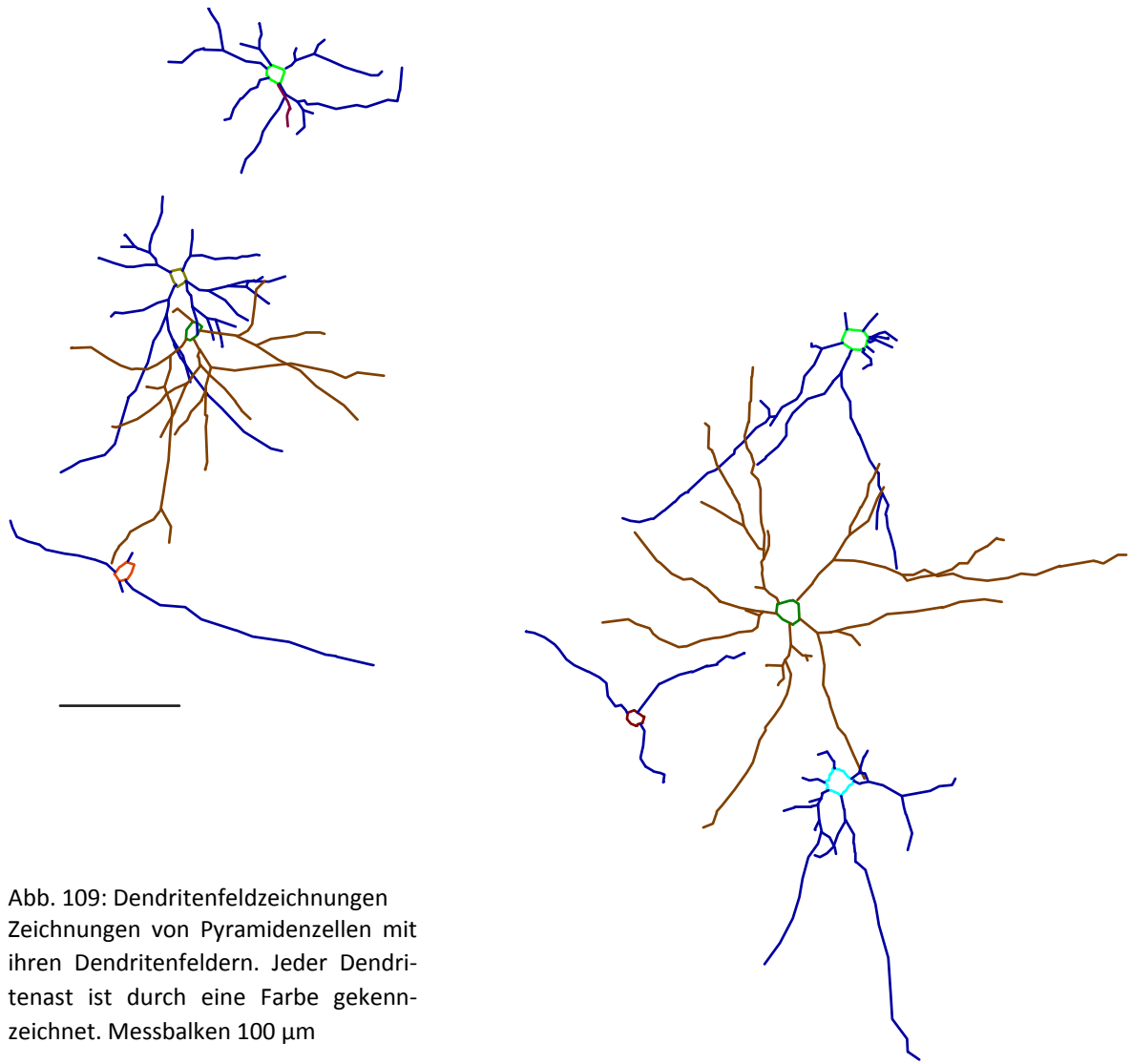
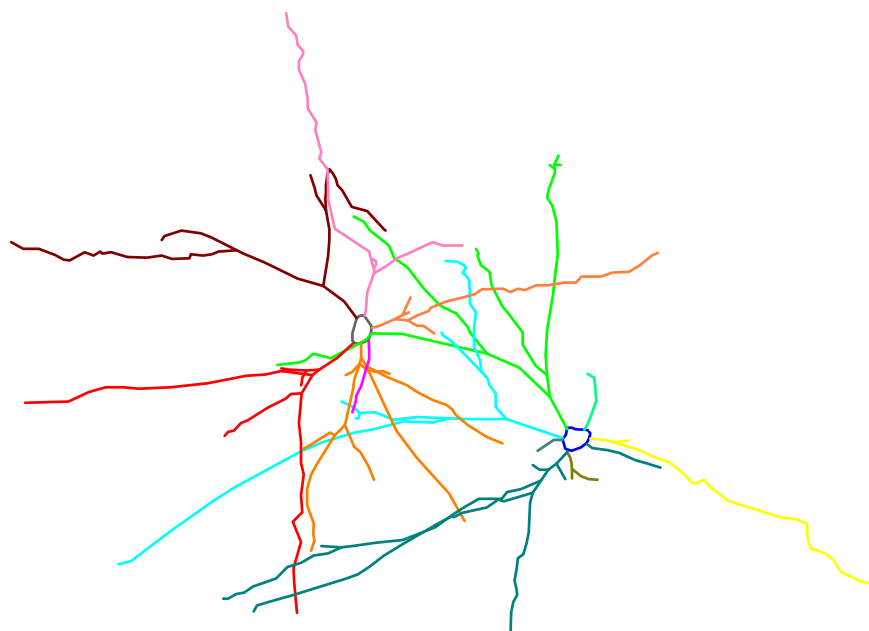


Abb. 109: Dendritenfeldzeichnungen
Zeichnungen von Pyramidenzellen mit
ihren Dendritenfeldern. Jeder Dendri-
tenast ist durch eine Farbe gekenn-
zeichnet. Messbalken 100 μm



Fortsetzung des Anhangs 57 von Seite 193

Tiefe (Ober- kante d. Schnitts) in µm	Fläche in µm ²	max. Durch- messer in µm	min. Durch- messer in µm	Zellen in Säule über u. unter Patch	Zellen im Patch	Zellen außer- halb der Patche	Patch- volumen in µm ³	Zellen im Volum .	Entferng. z. nächst. Zelle Durch- schnitt	naheste nächste Zelle in µm	weiteste nächste Zelle in µm	alle Zellen, Durch- schnitt Entferng. in µm
Patch 4												
Durchsch	404420	922,7	577,2	25,4	4,1	Summe:	315286726	33	131,4	55,5	323,2	447,2
-630	418289					2	29280249					
-700	585955	1209,9	639,6	30	3		41016850					
-770	448809	981,2	561,6	28	2		31416630					
-840	389974	941,1	559,7	27	4		27298180					
-910	495522	1119,7	634,7	29	4		34686540					
-980	441336	942,1	671,1	28	8		30893520					
-1050	279454	679,8	540,4	22	3		19561780					
-1120	189889	585,3	433	14	5		13292230					
-1190	418289					1	29280249					
-1260	418289						29280249					
-1330	418289					1	29280249					
Patch 5												
Durchsch	204134	628,6	414,1	6,0	1,9	Summe:	214558341	24	187,4	18,6	374,1	654,8
-420	204522					1	14316568					
-490	205304	600,7	456,8	6	1		14371280					
-560	352308	914,1	513,5	11	3		24661560					
-630	322844	741	591,7	9	2		22599080					
-700	100204	394,9	338,8	2	2		7014280					
-770	124692	535,1	308,1	4	1		8728440					
-840	205876	752,5	360,7	6	1		14411320					
-910	204522					1	14316568					
-980	204522					1	14316568					
-1050	117712	461,8	329	4	3	1	8239840					
-1120	204522					2	14316568					
-1190	204522						14316568					
-1260	204522						14316568					
-1330	204522						14316568					
-1400	204522					1	14316568					

Boutonmessstreckenmarker (P8)						Boutondichte		
mittig gesetzt, eingeebneter Kortex (Z-Wert)						arith.Mittel	Stabw.	
						5,6	+/-2,7	
Entferng.	Tiefe	Bouton	Entferng.	Tiefe	Bouton	Entferng.	Tiefe	Bouton
in μm	(Z) in μm	Dichte	in μm	(Z) in μm	Dichte	in μm	(Z) in μm	Dichte
2592,8	-117	8,5	5955,8	-574	7,9	6470,2	-654	7,1
2459,4	-138	6,2	6942,6	-234	14,2	7270,4	-848	5,9
3836,4	-136	2,6	6775,1	-204	3,6	7520	-848	4,3
2966,2	-31	6,0	7129,3	-137	8,3	8144,6	-842	7,0
2897,8	-12	4,1	6487,9	-241	3,6	8327,8	-842	9,5
2906,9	-80	4,2	8855,3	-166	4,8	8483,9	-842	4,9
2938,9	-7	5,7	8364	-177	12,4	8676,2	-842	3,1
4543,6	-14	3,4	8602,1	-176	15,1	6698	-555	8,2
4419	-16	5,1	8444,5	-177	8,5	6840,3	-555	4,5
4292,6	-16	1,6	4360	-542	3,4	6991,3	-555	7,8
5651,3	-29	4,8	4544,6	-546	5,9	7144	-555	6,9
5731,2	-29	6,8	6005,3	-421	11,3	7288,4	-555	4,7
1999,5	-23	4,4	6337,3	-284	3,0	7429,2	-555	5,0
2017,2	-16	6,4	6424,7	-284	10,5	7561	-555	3,8
2104,2	-29	6,5	6548,4	-284	7,7	7695,3	-556	5,1
2076,1	-204	5,1	6686,6	-284	7,5	7814,8	-555	6,7
2199	-204	6,2	6731	-146	2,8	7945,1	-555	5,2
2355,4	-147	5,7	6627	-146	1,8	7180	-568	4,3
2165,2	-195	6,2	6867,5	-146	4,9	7233	-562	10,9
2747,3	-10	4,1	7426,9	-981	1,4	7293,1	-564	6,8
2859,4	-12	3,9	7233	-981	1,2	7372,4	-566	6,1
2742,4	-151	5,8	7090,4	-981	1,9	7463	-556	6,8
3008,2	-7	15,1	6932,1	-981	3,8	7538	-565	7,2
3116,3	-213	4,8	6759,9	-980	0,6	7600,9	-557	6,1
3306,8	-202	3,9	6588	-980	2,3	7668,8	-551	6,5
3402	-215	6,2	6396,3	-980	2,3	6498,4	-411	4,2
3536,5	-215	3,0	6193	-979	3,3	6603,3	-408	8,3
3700,7	-211	2,5	2847,5	-122	5,7	6728,3	-406	3,3
3558,9	-231	3,5	2740,8	-122	6,0	6935,2	-397	5,5
4245,1	-249	10,8	2642,9	-122	7,3	7161,3	-394	5,1
6102,8	-64	1,8	2541,8	-122	4,0	7303	-387	4,8
6706,7	-47	6,9	2933,7	-121	5,8	7588,5	-370	8,0
4000	-179	10,7	2946,1	-121	6,3	7415,3	-372	2,7
4228,9	-43	11,7	3352,2	-128	3,4	9111,1	-917	3,5
6256,2	-145	6,5	3225,4	-128	10,5	9378,5	-917	7,4
4552	-571	4,2	3171,1	-116	7,4	9418,3	-755	3,1
4712,6	-569	6,3	3307,6	-116	7,4	9687,3	-755	4,2
4921	-567	5,2	3175,2	-132	6,1	8548,8	-651	5,4
5115,5	-564	5,4	4726,6	-128	4,0	8781,3	-772	9,0
5334,9	-560	10,0	4499,4	-128	6,5	9075,7	-774	2,7
3498,4	-474	16,1	4297,1	-128	2,1	9267,4	-774	6,7
1894,6	-599	4,8	4101,5	-128	1,9	8942,6	-768	5,2
4260,5	-416	8,2	3893	-128	3,8	5389,7	-621	10,0
2351,6	-208	9,0	6268,1	-584	6,0	5599,1	-620	12,3

Anhang 59:
Bouton-
dichte,
Datenta-
belle

Entferng.	Tiefe	Bouton		Entferng.	Tiefe	Bouton
in µm	(Z) in µm	Dichte		in µm	(Z) in µm	Dichte
5191,2	-622	7,9		8298,4	-673	4,4
4829,7	-488	5,1		8172,6	-811	3,1
5046	-520	6,9		8015,7	-814	4,2
5886,7	-665	5,8		7932,1	-1077	2,2
5761,1	-665	5,1		7929,6	-1085	3,5
5231,3	-866	3,9		7809,1	-1152	3,3
5303,5	-838	9,6		9762	-1168	3,1
5137,8	-689	6,7		9412	-1277	3,1
4893,4	-502	7,0		8894,6	-897	3,5
4755,1	-502	9,3		8919,1	-882	2,7
4563,6	-502	9,1		6309,8	-868	2,8
4764,4	-489	6,8		6130,2	-848	2,0
5033,1	-280	8,4		5902,6	-914	2,8
4872,3	-283	8,8		5671,9	-920	4,0
4689,1	-286	8,1		5471,3	-917	2,7
4479	-288	7,7		9056,5	-1451	9,4
4622,3	-1	5,3		9168,8	-1439	4,9
4343,9	-1	5,5		7399,9	-1244	5,5
6375,9	-634	4,7		7571,8	-1244	4,3
6875,7	-625	6,9		7711,8	-1243	3,6
6732,5	-623	5,6		7855,2	-1242	2,7
8352,5	-848	6,4		8020	-1241	6,1
8225,6	-847	3,1		8204,7	-1361	7,3
8130,9	-847	3,3		8360,8	-1360	5,3
8016,8	-824	3,7		8553,1	-1418	5,5
7877	-781	0,8		7594,7	-1231	3,8
7747,2	-780	3,5		7738,8	-1230	6,0
7598,8	-649	2,9		7903,4	-1229	4,3
7466,3	-649	2,6		8079	-1228	5,2
7310,4	-649	5,0		8210,1	-1227	4,5
7157,4	-649	4,6		8340,9	-1226	8,3
7016,3	-649	2,3		8500,8	-1225	3,0
7949,3	-850	7,8		9642,4	-842	10,0
8040,7	-850	8,6		5263,5	-1171	4,9
7835,7	-850	9,9		5409,5	-1169	2,1
8124,6	-861	6,4		5555,2	-1167	6,4
8227,4	-861	4,2		5684,1	-1165	4,7
8342,2	-846	6,7		5832,9	-1267	5,5
8424,9	-837	3,1		5973,2	-1315	3,0
8522,9	-836	8,2		6154,2	-1314	7,5
8791,5	-752	9,2		6370	-1308	3,8
8890,2	-774	1,7		6567,4	-1302	5,3
8591,7	-783	2,2		6753,5	-1291	2,6
8755,1	-780	1,8		6891,2	-1283	9,2
6180,5	-295	8,0		6985,1	-1272	4,4
5927,1	-235	3,7		6797,4	-897	5,8
6124,6	-221	3,2		7015	-879	6,6
9859,1	-802	4,0		7215,1	-877	7,1

Anhang 79: Modelle des Motorkortex

Passingham verwendet den Ausdruck des „Fingerabdrucks“ (s. Abb. 110), um einerseits die Einzigartigkeit eines Areals oder eines Funktionsortes und andererseits das Ausmaß / den Grad des Beitrags dieses Ortes zu einer Funktion zu charakterisieren, die vielfältige Dimensionen hat (Passingham, Stephan et al. 2002). Passingham bezieht sich auf Zilles et al, der „Fingerprint“ mit der Rezeptorcharakteristik der Zellen eines Areals, deren intrinsische und extrinsische Verbindungen und die Informationsverarbeitungscharakteristik der Zellen in Verbindung bringt (Geyer, Matelli 1998). Man spürt hier die anatomisch interessierten Forscher, die Interesse an einem Zusammenführen experimenteller, insbesondere auch anatomischer Daten haben (wie z.B. im CoCoMac-Projekt (Stephan, Kamper et al. 2001)).

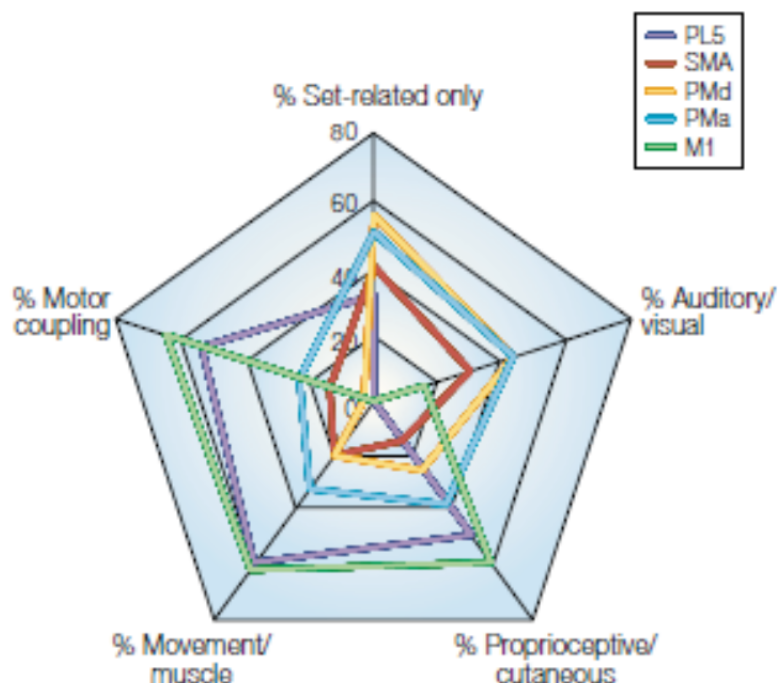


Abb. 110: Funktionaler Fingerabdruck von motorischen Arealen

Die polare Grafik spannt ein Funktionsfeld auf, das fünf verschiedene Dimensionen möglicher Aktivitätsbeziehung wiedergibt (Auditorisch/visuelle Stimulation, propriozeptorische/kutane Stimulation, Bewegungs-/Muskelstimulation, Abhängigkeit von Verhaltensparametern, versuchsbezogene Entladung). Fünf verschiedene Areale sind eingetragen und geben in ihren Graphen den jeweiligen Prozentsatz antwortender Zellen auf eine Beziehungsdimension wieder. Diese „Fingerabdrücke“ können für vielerlei Dimensionen (z.B. Afferenzen/Efferenzen) erstellt werden.

Abkürzungen: M1 = primärer Motorkortex; PL5 superior parietales Areal 5; PMa = (post-arcuate) Teil des ventralen prämotorischen Areals; PMd = dorsaler prämotorischer Kortex; SMA = supplementärer Motorkortex.

Aus: Passingham 2002, S. 612

Andere entwerfen Modelle, die als ein Bindeglied zwischen sensorischen Eingängen und deren assoziativer Verarbeitung mit den vom Motorkortex initiierten Bewegungsmustern fungieren (Ting and McKay 2007). Dieses enthält Muskelsynergie-Muster („muscle synergies“), die in wenigen Übersetzungsschritten die Vielfalt des angepassten Verhaltens

durch unterschiedliche Kombination erreichen. Die Muskelkontraktionsmuster werden durch die Muskelsynergiemuster zwingend festgelegt. Diese übertragen Verhaltensziele in Muskelbewegungsmuster. Sie stehen am Grund der Hierarchie nervöser Motor-Kontrolle. Sie sind das Spiegelbild der sensorischen Prozessierungs-Systeme (s. Abb. 111). Muskelsynergien implizieren, dass individuelle Lösungen für Bewegungsaufgaben gefunden werden (S. Bernstein's „degrees-of-freedom“-Problem (Bernstein 1967, Sporns and Edelman 1993).

Unter diesen Muskelsynergie-Mustern darf man sich keine feste Verbindungsstruktur (Capaday 2004) vorstellen. Vielmehr werden sie als Vektoren gedacht, die ein Muster von relativen Aktivitätsniveaus der Muskeln spezifizieren. Das absolute Aktivitätsniveau eines Muskelsynergie-Musters wird vermutlich durch ein einzelnes neuronales Befehlssignal moduliert. Für eine motorische Aufgabe werden verschiedene Kombinationen einiger Muskelsynergien kombiniert, um das Verhalten zu produzieren. Sie sind inert gegenüber schnellen sensorischen Einflüssen und stabilisieren damit den Verhaltensablauf, sind aber individuell und situativ kombiniert und damit von hoher Anpassungsflexibilität¹⁰⁸. Neuronale Koordinations- und biomechanische Kontrollstrategien werden dabei mit diskutiert,

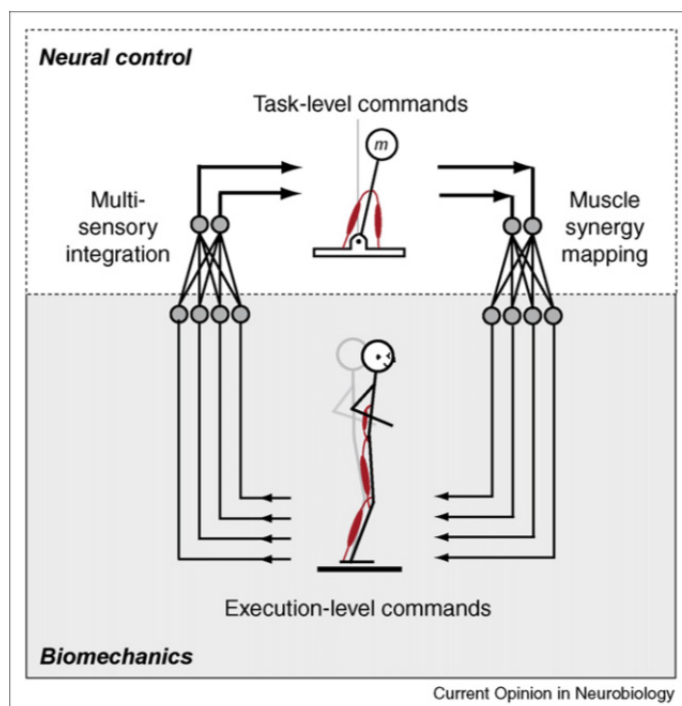


Abb. 111 Modell Muskelsynergien
Muskelsynergien erlauben neuronale Kommandos auf dem Niveau von Aufgabenstellungen in Muskelaktivitätsmuster der Ausführung zu übersetzen. Die hierarchische Struktur spiegelt das multisensorische Integrationssystem wider. Aus: Ting 2007, S. 623

die etwa die Körperhaltung als Balance von Feedforward-Aktivierung von Muskeln und sensorischer Feedback-Kontrolle ansehen (Ting, L. et al. s. Abb. 111) (weitere Modelle: (Murphy, Kwan 1978, Markram 2008, Matyas, Sreenivasan 2010).

Weitere Modelle: (Markram 2008) Markram macht anhand von einzelnen 3-D-Neuronrekonstruktionen und deren Verbindungsstruktur einen Vorschlag, der eine klare anatomische Grenze verneint und die funktionelle Struktur an den punktuellen Input bindet, der eine vertikale Kolumne aktiviert, die den geforderten und gemessenen Dimensionen entsprechen. Matyas (Matyas, Sreenivasan et al. 2010) weist nach, dass die Bewegungskontrolle vom somatosensorischen „Whisker“-Kortex ausgeht und zwar für das Zurückziehen der Haare, während der primäre Motorkortex das Vorstrecken der Haare kontrol-

¹⁰⁸ A.a.O. S.622

liert. Murphy (Murphy, Kwan et al. 1978) zeigt auf, dass sensorischer Input die Erleichterung eines bestimmten muskel- bzw. bewegungsbezogenen Aktivitätsmusters bewirkt. Scott scheint mir diese Idee aufzugreifen.

Scott (Scott 2008) setzt in seinen Konzepten am sensorischen Feedback an, das lange Zeit mit dem Problem zu kämpfen hatte, dass dieses Feedback eine Zeitverzögerung hat und damit für schnelle Korrekturen ungeeignet sei. Scott sieht die entscheidende Kontrolle in einem Zusammenspiel zwischen einer Instanz, die die optimalen Bedingungen für eine Aufgabe definiert, und einer Instanz, die die Entscheidung für eine Aufgabe erhält und Bewegungskommandos generiert, die beide über die Efferenzkopie miteinander verbunden sind. Diese ersetzt das sensorische Feedback solange, solange dieses über die Verzögerung noch nicht aktualisiert ist (s. Abb. 112).

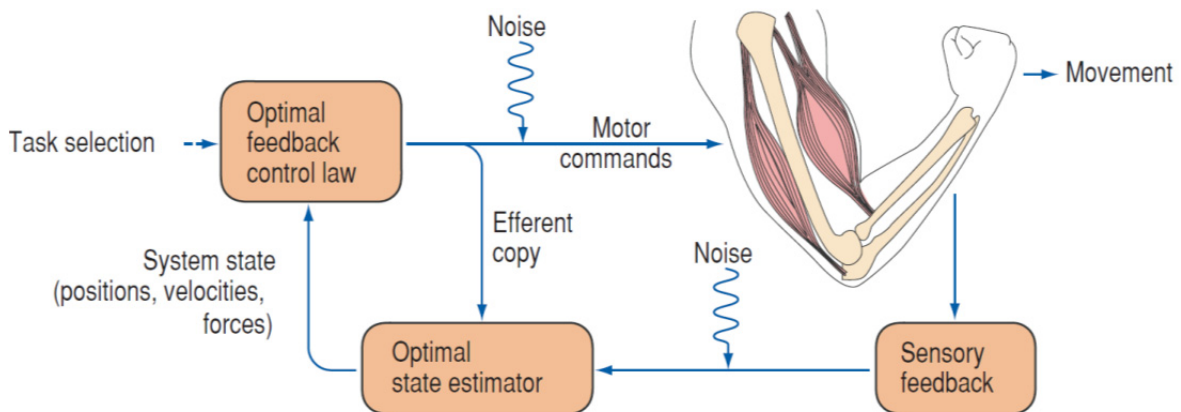


Abb. 112: Feedback-Modell von Scott

Die Rückmeldekontroll-Instanz (optimal feedback control law) überträgt Zustandsvariablen des Körpers in Bewegungsbefehle. Sie sendet eine Efferenzkopie an eine Instanz, die Ist- und Soll-Zustand vergleicht und dazu die sensorische Rückmeldung nutzt. Verzögerungen im sensorischen Feedback von der Peripherie können überbrückt werden, indem die Efferenzkopie der Bewegungsbefehle genutzt wird, um die augenblicklichen Körperzustandsvariablen einschätzen zu helfen. Aus: Scott 2008, S. 1222

Wichtig ist auch in diesem Modell, dass Neurone keine direkte Kodierung oder Repräsentationen in ihren Feuerraten zeigen bzw. nicht Repräsentanzen oder Kodierungen den Feuerraten der Neurone zugeordnet, ihnen entnommen oder interpretiert werden. Es wird vielmehr versucht, den Prozess der Informationsverarbeitung zu verstehen, dass Neurone, die eben nicht auf irgendeinen Parameter spezialisiert sind, als Ensemble funktionieren, deren einzelne Antworten vom sensorischen Feedback wesentlich beeinflusst werden. D.h. dass visuelle Rückmeldungen zielbezogen beantwortet werden, Gelenkstellungen auf der Ebene von Gelenktorsion und Kraftaspekte auf der Ebene von Muskelaktivität (Todorov 2000, Todorov and Jordan 2002, Guigon, Baraduc et al. 2007a, Guigon, Baraduc et al. 2007b, Scott 2008, Sussillo and Abbott 2009) s.a. den Briefwechsel mit Georgopoulos (Georgopoulos and Ashe 2000, Moran and Schwartz 2000) darin auch eine Antwort von Scott).

Die Bedeutung der feedback-Prozesse (loops) als kraftvolle Modulatoren der motorischen Netzwerkaktivität hat man durch die Simulation solcher Netzwerke über ein Programm „FORCE“ aufzeigen können, neben der von den Autoren besonders hervorgehobenen synaptischen Plastizität (Sussillo and Abbott 2009). Andere auf den Motorkortex abgestellte Modelle: Guigon 2007 a+b.

8. Literaturverzeichnis

- Abeles, M. (1991). "Corticonics: Neural Circuits of the Cerebral Cortex." Cambridge.
- Aigner, M., J. R. Lukas, M. Denk, F. Ziya-Ghazvini, A. Kaider and R. Mayr (2000). "Somatotopic organization of primary afferent perikarya of the guinea-pig extraocular muscles in the trigeminal ganglion: a post-mortem Dil-tracing study." *Experimental Eye Research* 70(4): 411-418.
- Amirikian, B. and A. P. Georgopoulos (2003). "Modular organization of directionally tuned cells in the motor cortex: is there a short-range order?" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(21): 12474-12479.
- Amunts, K., V. Istomin, A. Schleicher and K. Zilles (1995). "Postnatal development of the human primary motor cortex: a quantitative cytoarchitectonic analysis." *Anatomy & Embryology* 192(6): 557-571.
- Amunts, K., F. Schmidt-Passos, A. Schleicher and K. Zilles (1997b). "Postnatal development of interhemispheric asymmetry in the cytoarchitecture of human area 4." *Anatomy & Embryology* 196(5): 393-402.
- Anderson, J. C., T. Binzegger, R. J. Douglas and K. A. Martin (2002). "Chance or design? Some specific considerations concerning synaptic boutons in cat visual cortex." *Journal of Neurocytology* 31(3-5): 211-229.
- Andres, M., X. Seron and E. Olivier (2007). "Contribution of hand motor circuits to counting." *Journal of Cognitive Neuroscience* 19(4): 563-576.
- Angelucci, A., J. B. Levitt, E. J. Walton, J. M. Hupe, J. Bullier and J. S. Lund (2002b). "Circuits for local and global signal integration in primary visual cortex." *Journal of Neuroscience* 22(19): 8633-8646.
- Arbib, M. and M. Bota (2003). "Language evolution: neural homologies and neuroinformatics." *Neural Networks* 16: 1237-1260.
- Aroniadou, V. A. and A. Keller (1993). "The patterns and synaptic properties of horizontal intracortical connections in the rat motor cortex." *Journal of Neurophysiology* 70(4): 1553-1569.
- Aronoff, R., F. Matyas, C. Mateo, C. Ciron, B. Schneider and C. C. Petersen (2010). "Long-range connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex. [Review]." *European Journal of Neuroscience* 31(12): 2221-2233.
- Asanuma, H. (1975a). "Recent developments in the study of the columnar arrangement of neurons within the motor cortex." *Physiological Reviews* 55(2): 143-156.
- Asanuma, H. and I. Rosen (1972a). "Topographical organization of cortical efferent zones projecting to distal forelimb muscles in the monkey." *Experimental Brain Research* 14(3): 243-256.
- Babmindra, V. P. and A. S. Batuew (1976). "[Morphological studies on interneuronal relations in the feline motor cortex]. [German]." *Journal fur Hirnforschung* 17(6): 501-511.
- Badets, A., M. Andres, S. Di Luca and M. Pesenti (2007). "Number magnitude potentiates action judgements." *Experimental Brain Research* 180(3): 525-534.
- Baker, S. N., J. M. Kilner, E. M. Pinches and R. N. Lemon (1999). "The role of synchrony and oscillations in the motor output." *Experimental Brain Research* 128(1-2): 109-117.
- Baker, S. N., E. Olivier and R. N. Lemon (1997). "Coherent oscillations in monkey motor cortex and hand muscle EMG show task-dependent modulation." *Journal of Physiology* 501(Pt 1): 225-241.
- Baker, S. N., E. Olivier and R. N. Lemon (1998). "An investigation of the intrinsic circuitry of the motor cortex of the monkey using intra-cortical microstimulation." *Experimental Brain Research* 123(4): 397-411.
- Barabasi, A. L. and E. Bonabeau (2004). "Skalenfreie Netze." *Spektrum der Wissenschaft*: 62-69.

- Barbas, H. and D. N. Pandya (1987). "Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey." *Journal of Comparative Neurology* 256(2): 211-228.
- Basole, A., V. Kreft-Kerekes, L. E. White and D. Fitzpatrick (2006). "Cortical cartography revisited: A frequency perspective on the functional architecture of visual cortex. [Review] [42 refs]." *Progress in Brain Research* 154: 121-134.
- Basole, A., L. E. White and D. Fitzpatrick (2003). "Mapping multiple features in the population response of visual cortex." *Nature* 423(6943): 986-990.
- Behrens, T. E. and O. Sporns (2012). "Human connectomics." *Current Opinion in Neurobiology* 22(1): 144-153.
- Beisteiner, R., C. Windischberger, R. Lanzenberger, V. Edward, R. Cunnington, M. Erdler, A. Garts, B. Streibl, E. Moser and L. Deecke (2001). "Finger somatotopy in human motor cortex." *Neuroimage* 13(6 Pt 1): 1016-1026.
- Belichenko, P. V. (1990). "[Use of fluorescent carbocyanine dyes in the study of the organization of the pathways in autopsy material of the human brain]. [Russian]." *Biulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny* 109(5): 500-501.
- Ben-Shaul, Y., R. Drori, I. Asher, E. Stark, Z. Nadasdy and M. Abeles (2003a). "Neuronal activity in motor cortical areas reflects the sequential context of movement." *Journal of Neurophysiology* 91(4): 1748-1762.
- Ben-Shaul, Y., E. Stark, I. Asher, R. Drori, Z. Nadasdy and M. Abeles (2003b). "Dynamical organization of directional tuning in the primate premotor and primary motor cortex." *Journal of Neurophysiology* 89(2): 1136-1142.
- Bernardo, K. L., J. S. McCasland, T. A. Woolsey and R. N. Strominger (1990). "Local intra- and interlaminar connections in mouse barrel cortex." *Journal of Comparative Neurology* 291(2): 231-255.
- Bernstein, N. (1958). "Modeling as a means to study neuromotor processes." *Proceedings of Pedogogy (Academy of Science, Russia)* 2: 89-94.
- Bernstein, N. (1967). "The Coordination and Regulation of Movements." New York.
- Biederlack, J., M. Castelo-Branco, S. Neuenschwander, D. W. Wheeler, W. Singer and D. Nikolic (2006). "Brightness induction: rate enhancement and neuronal synchronization as complementary codes." *Neuron* 52(6): 1073-1083.
- Binzegger, T., R. J. Douglas and K. A. Martin (2005). "Axons in cat visual cortex are topologically self-similar." *Cerebral Cortex* 15(2): 152-165.
- Binzegger, T., R. J. Douglas and K. A. Martin (2007). "Stereotypical bouton clustering of individual neurons in cat primary visual cortex." *Journal of Neuroscience* 27(45): 12242-12254.
- Binzegger, T., R. J. Douglas and K. A. Martin (2009). "Topology and dynamics of the canonical circuit of cat V1." *Neural Networks* 22(8): 1071-1078.
- Bloom, J. A. and W. W. Webb (1983). "Lipid diffusibility in the intact erythrocyte membrane." *Biophysical Journal* 42(3): 295-305.
- Bonhoeffer, T. and A. Grinvald (1993). "The layout of iso-orientation domains in area 18 of cat visual cortex: optical imaging reveals a pinwheel-like organization." *Journal of Neuroscience* 13(10): 4157-4180.
- Bosking, W. H., Y. Zhang, B. Schofield and D. Fitzpatrick (1997). "Orientation selectivity and the arrangement of horizontal connections in tree shrew striate cortex." *Journal of Neuroscience* 17(6): 2112-2127.
- Boucsein, C., M. P. Nawrot, P. Schnepel and A. Aertsen (2011). "Beyond the cortical column: abundance and physiology of horizontal connections imply a strong role for inputs from the surround." *Frontiers in Neuroscience* 5: 1-13.
- Briggs, J. and F. D. Peat (1990). "Die Entdeckung des Chaos." München.
- Broca, P. (1861). "Remarks on the seat of spoken language, followed by a case of aphasia (1861)." *Neuropsychology Review* 21(3): 227-229.
- Brodmann, K. (1909). "Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde."

- Brown, T. G. and C. S. Sherrington (1912). "On the Instability of a Cortical Point." *Proceedings of the Royal Society Vol.B* 85 1912: pp 250-277.
- Burck, H.-C. (1988). "Histologische Technik, Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis." Stuttgart.
- Burkhalter, A. and K. L. Bernardo (1989b). "Organization of corticocortical connections in human visual cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86(3): 1071-1075.
- Buxhoeveden, D. P. and M. F. Casanova (2002). "The minicolumn hypothesis in neuroscience." *Brain* 125(Pt 5): 935-951.
- Callaway, E. M. and L. C. Katz (1991). "Effects of binocular deprivation on the development of clustered horizontal connections in cat striate cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88(3): 745-749.
- Capaday, C. (2004). "The integrated nature of motor cortical function." *Neuroscientist* 10(3): 207-220.
- Capaday, C. (2004). "The integrated nature of motor cortical function. [Review] [77 refs]." *Neuroscientist* 10(3): 207-220.
- Capaday, C., H. Devanne, L. Bertrand and B. A. Lavoie (1998). "Intracortical connections between motor cortical zones controlling antagonistic muscles in the cat: a combined anatomical and physiological study." *Experimental Brain Research* 120(2): 223-232.
- Capaday, C., C. Ethier, L. Brizzi, A. Sik, C. van Vreeswijk and D. Gingras (2009). "On the Nature of the Intrinsic Connectivity of the Cat Motor Cortex: Evidence for a Recurrent Neural Network Topology." *Journal of Neurophysiology* 102(4): 2131-2141.
- Capaday, C. and D. D. Rasmusson (2003). "Expansion of receptive fields in motor cortex by local blockade of GABA(A) receptors." *Experimental Brain Research* 153(1): 118-122.
- Capaday, C., C. van Vreeswijk, C. Ethier, J. Ferkinghoff-Borg and D. Weber (2011). "Neural mechanism of activity spread in the cat motor cortex and its relation to the intrinsic connectivity." *Journal of Physiology* 589(Pt 10): 2515-2528.
- Castellanos, N. P., I. Leyva, J. M. Buldu, R. Bajo, N. Paul, P. Cuesta, V. E. Ordonez, C. L. Pascua, S. Boccaletti, F. Maestu and F. del-Pozo (2010a). "Principles of recovery from traumatic brain injury: Reorganization of functional networks." *NeuroImage* Dec(Pagination): No Pagination Specified.
- Castellanos, N. P., N. Paul, V. E. Ordonez, O. Demuynck, R. Bajo, P. Campo, A. Bilbao, T. Ortiz, F. del-Pozo and F. Maestu (2010b). "Reorganization of functional connectivity as a correlate of cognitive recovery in acquired brain injury." *Brain* 133(Pt 8): 2365-2381.
- Chen, B. K., S. M. Miller, C. B. Mantilla, L. Gross, M. J. Yaszemski and A. J. Windebank (2006). "Optimizing conditions and avoiding pitfalls for prolonged axonal tracing with carbocyanine dyes in fixed rat spinal cords." *Journal of Neuroscience Methods* 154(1-2): 256-263.
- Chen, Z. J., Y. He, P. Rosa, J. Germann and A. C. Evans (2008). "Revealing modular architecture of human brain structural networks by using cortical thickness from MRI." *Cerebral Cortex* 18(10): 2374-2381.
- Cheney, P. D. and E. E. Fetz (1980). "Functional Classes of Primate Corticomotoneuronal Cells and Their Relation to Active Force." *Journal of Neurophysiology* 44, Nr.4.
- Cheney, P. D. and E. E. Fetz (1985). "Comparable patterns of muscle facilitation evoked by individual corticomotoneuronal (CM) cells and by single intracortical microstimuli in primates: evidence for functional groups of CM cells." *Journal of Neurophysiology* 53: 786-804.
- Chklovskii, D. B., T. Schikorski and C. F. Stevens (2002). "Wiring optimization in cortical circuits." *Neuron* 34(3): 341-347.
- Cho, R. H., S. Segawa, A. Mizuno and T. Kaneko (2004). "Intracellularly labeled pyramidal neurons in the cortical areas projecting to the spinal cord - I. Electrophysiological properties of pyramidal neurons." *Neuroscience Research* 50(4): 381-394.
- Churchland, M. M., J. P. Cunningham, M. T. Kaufman, J. D. Foster, P. Nuyujukian, S. I. Ryu and K. V. Shenoy (2012). "Neural population dynamics during reaching." *Nature* 487(7405): 51-56.

Churchland, M. M., G. Santhanam and K. V. Shenoy (2006). "Preparatory activity in premotor and motor cortex reflects the speed of the upcoming reach." *Journal of Neurophysiology* 96(6): 3130-3146.

Clower, D. M., R. P. Dum and P. L. Strick (2005). "Basal ganglia and cerebellar inputs to 'AIP'." *Cerebral Cortex* 15(7): 913-920.

Cordo, P. and V. Gurfinkel (1992). "Controversies in Neuroscience I: Movement Control." New York: iii.

Cragg, B. G. (1967). "The density of synapses and neurones in the motor and visual areas of the cerebral cortex." *Journal of Anatomy* 101(Pt 4): 639-654.

Crecelius, A., A. Gotz, T. Arzberger, T. Frohlich, G. J. Arnold, I. Ferrer and H. A. Kretzschmar (2008). "Assessing quantitative post-mortem changes in the gray matter of the human frontal cortex proteome by 2-D DIGE." *Proteomics* 8(6): 1276-1291.

Creutzfeldt, O. D. (1983). "Cortex Cerebri. Leistung, strukturelle und funktionelle Organisation der Hirnrinde." Berlin, Heidelberg.

Crick, F. and E. Jones (1993). "Backwardness of human neuroanatomy." *Nature* 361(6408): 109-110.

Cusick, C. G., B. Seltzer, M. Cola and E. Griggs (1995). "Chemoarchitectonics and corticocortical terminations within the superior temporal sulcus of the rhesus monkey: evidence for subdivisions of superior temporal polysensory cortex." *Journal of Comparative Neurology* 360(3): 513-535.

da Costa, N. M. and K. A. Martin (2010). "Whose Cortical Column Would that Be?" *Frontiers in Neuroanatomy* 4(16).

Das, A., J. G. Franca, R. Gattass, J. H. Kaas, M. A. Nicolelis, C. Timol-Laria, C. D. Vargas, N. M. Weinberger and E. Volchan (2001). "The brain decade in debate: VI. Sensory and motor maps: dynamics and plasticity. [Review] [70 refs]." *Brazilian Journal of Medical & Biological Research* 34(12): 1497-1508.

DeAngelis, G. C., G. M. Ghose, I. Ohzawa and R. D. Freeman (1999). "Functional micro-organization of primary visual cortex: receptive field analysis of nearby neurons." *Journal of Neuroscience* 19(10): 4046-4064.

Defelipe, J. (2011). "The evolution of the brain, the human nature of cortical circuits, and intellectual creativity." *Frontiers in Neuroanatomy* 5(29).

DeFelipe, J., M. Conley and E. G. Jones (1986b). "Long-range focal collateralization of axons arising from corticocortical cells in monkey sensory-motor cortex." *Journal of Neuroscience* 6(12): 3749-3766.

DeFelipe, J., S. H. Hendry and E. G. Jones (1986a). "A correlative electron microscopic study of basket cells and large GABAergic neurons in the monkey sensory-motor cortex." *Neuroscience* 17(4): 991-1009.

DeFelipe, J. and E. G. Jones (1985). "Vertical organization of gamma-aminobutyric acid-accumulating intrinsic neuronal systems in monkey cerebral cortex." *Journal of Neuroscience* 5(12): 3246-3260.

Deleers, M., J. P. Servais, F. de Laveleye and E. Wulfert (1984). "Effect of lipid composition changes on carbocyanine dye fluorescent response." *Biochemical & Biophysical Research Communications* 123(1): 178-185.

Devanne, H., F. Cassim, C. Ethier, L. Brizzi, A. Thevenon and C. Capaday (2006). "The comparable size and overlapping nature of upper limb distal and proximal muscle representations in the human motor cortex." *European Journal of Neuroscience* 23(9): 2467-2476.

Devanne, H., B. A. Lavoie and C. Capaday (1997). "Input-output properties and gain changes in the human corticospinal pathway." *Experimental Brain Research* 114(2): 329-338.

Dickson, B. J. and E. I. Moser (2007). "AUS Neurobiology of behaviour." *Current Opinion in Neurobiology* 17(6): 672-674.

Donoghue, J. P., S. Leibovic and J. N. Sanes (1992). "Organization of the forelimb area in squirrel monkey motor cortex: representation of digit, wrist, and elbow muscles." *Experimental Brain Research* 89(1): 1-19.

Donoghue, J. P., J. N. Sanes, N. G. Hatsopoulos and G. Gaal (1998). "Neural discharge and local field potential oscillations in primate motor cortex during voluntary movements." *Journal of Neurophysiology* 79(1): 159-173.

Donoghue, J. P. and S. P. Wise (1982). "The motor cortex of the rat – cytoarchitecture and microstimulation mapping." *Journal of Comparative Neurology* 212(1): 76-88.

Douglas, R. J., H. Markram and K. A. Martin (2004). "Neocortex." in: Shepherd, G.M., the Synaptic Organization of the Brain, Oxford 2004.

Douglas, R. J. and K. A. Martin (2004). "Neuronal circuits of the neocortex. [Review] [176 refs]." *Annual Review of Neuroscience* 27: 419-451.

Douglas, R. J. and K. A. Martin (2007). "Mapping the matrix: the ways of neocortex. [Review] [101 refs]." *Neuron* 56(2): 226-238.

Douglas, R. J. and K. A. Martin (2009). "Inhibition in cortical circuits." *Current Biology* 19(10): 26.

Douglas, R. J., K. A. Martin and D. Whitteridge (1989). "A Canonical Microcircuit for Neocortex." *Neural Computation* 1: 480-488.

Dudel, J., R. Menzel, R.F. Schmidt (2001). "Neurowissenschaften: Vom Molekül zur Kognition." Berlin/Heidelberg

Dum, R. P. and P. L. Strick (1996). "Spinal cord terminations of the medial wall motor areas in macaque monkeys." *Journal of Neuroscience* 16(20): 6513-6525.

Dum, R. P. and P. L. Strick (2005). "Frontal lobe inputs to the digit representations of the motor areas on the lateral surface of the hemisphere." *Journal of Neuroscience* 25(6): 1375-1386.

Düweke, P., Ed. (2001). *Kleine Geschichte der Hirnforschung*. München.

Evarts, E. V. (1968). "Relation of pyramidal tract activity to force exerted during voluntary movement." *Journal of Neurophysiology* 31(1): 14-27.

Ferrer, I., A. Martinez, S. Boluda, P. Parchi and M. Barrachina (2008). "Brain banks: benefits, limitations and cautions concerning the use of post-mortem brain tissue for molecular studies. [Review] [116 refs]." *Cell & Tissue Banking* 9(3): 181-194.

Ferrer, I., G. Santpere, T. Arzberger, J. Bell, R. Blanco, S. Boluda, H. Budka, M. Carmona, G. Giaccone, B. Krebs, L. Limido, P. Parchi, B. Puig, R. Strammiello, T. Strobel and H. Kretzschmar (2007). "Brain protein preservation largely depends on the postmortem storage temperature: implications for study of proteins in human neurologic diseases and management of brain banks: a BrainNet Europe Study." *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 66(1): 35-46.

Ferrier, D. (1873). "Experimental Researches in Cerebral Physiology and Pathology." *British Medical Journal* 1(643): 26.

Fischl, B. and A. M. Dale (2000). "Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(20): 11050-11055.

Fitzpatrick, D., J. S. Lund and G. G. Blasdel (1985). "Intrinsic connections of macaque striate cortex: afferent and efferent connections of lamina 4C." *Journal of Neuroscience* 5(12): 3329-3349.

Friedman, D. I., J. K. Johnson, R. L. Chorsky and E. G. Stopa (1991). "Labeling of human retinohypothalamic tract with the carbocyanine dye, Dil." *Brain Research* 560(1-2): 297-302.

Fritsch, G. and E. Hitzig (1870). "Electric excitability of the cerebrum (Über die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns)." *Epilepsy & Behavior (Reprint 2009)* 15(2): 123-130.

Fuchs, T. (2010³). "Das Gehirn - ein Beziehungsorgan." Stuttgart.

Fujita, I. and T. Fujita (1996). "Intrinsic Connections in the macaque inferior temporal cortex." *Journal of Comparative Neurology* 368(4): 467-486.

Gallese, V., L. Fadiga, L. Fogassi and G. Rizzolatti (1996). "Action recognition in the premotor cortex." *Brain* 119: 593-609.

Galuske, R. A. (1994). "Neuroanatomische Untersuchungen zur postnatalen Entwicklung intraarealer Axonsysteme im visuellen Kortex von Katzen." Dissertation Frankfurt.

Galuske, R. A. (2006). "Dynamik und Plastizität der Informationsverarbeitung in der Großhirnrinde." MPG.

Galuske, R. A., W. Schlote, H. Bratzke and W. Singer (2000). "Interhemispheric asymmetries of the modular structure in human temporal cortex." *Science* 289(5486): 1946-1949.

Galuske, R. A., K. E. Schmidt, R. Goebel, S. G. Lomber and B. R. Payne (2002). "The role of feedback in shaping neural representations in cat visual cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(26): 17083-17088.

Galuske, R. A. and W. Singer (1996). "The origin and topography of long-range intrinsic projections in cat visual cortex: a developmental study." *Cerebral Cortex* 6(3): 417-430.

Gatter, K. C., J. J. Sloper and T. P. Powell (1978). "The intrinsic connections of the cortex of area 4 of the monkey." *Brain* 101(3): 513-541.

Georgopoulos, A. P. (1991). "Higher order motor control. [Review] [78 refs]." *Annual Review of Neuroscience* 14: 361-377.

Georgopoulos, A. P. and J. Ashe (2000). "One motor cortex, two different views. [Review] [19 refs]." *Nature Neuroscience* 3(10): 964-965.

Georgopoulos, A. P., H. Merchant, T. Naselaris and B. Amirkian (2007a). "Mapping of the preferred direction in the motor cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(26): 11068-11072.

Georgopoulos, A. P., A. B. Schwartz and R. E. Kettner (1986). "Neuronal population coding of movement direction." *Science* 233(4771): 1416-1419.

Gerhard, F., R. Haslinger and G. Pipa (2011). "Applying the multivariate time-rescaling theorem to neural population models." *Neural Computation* 23(6): 1452-1483.

Gerok, W. e. a. (1990). "Ordnung und Chaos in der unbelebten und belebten Natur. Verhandlungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte. 115. Versammlung 1988." Stuttgart.

Gerstner, W., A.K. Kreiter, H. Markram, A.V.M. Herz (1997). "Neural codes: Firing rates and beyond." *PNAS* (94), 12740-12741

Geyer, S., A. Ledberg, A. Schleicher, S. Kinomura, T. Schormann, U. Burgel, T. Klingberg, J. Larsson, K. Zilles and P. E. Roland (1996). "Two different areas within the primary motor cortex of man." *Nature* 382(6594): 805-807.

Ghosh, S. and R. Porter (1988a). "Corticocortical synaptic influences on morphologically identified pyramidal neurones in the motor cortex of the monkey." *Journal of Physiology* 400: 617-629.

Ghosh, S., D. Putrino, B. Burro and A. Ring (2009). "Patterns of spatio-temporal correlations in the neural activity of the cat motor cortex during trained forelimb movements." *Somatosensory and Motor Research* 26(2-3): 31-49.

Gilbert, C. D. (1992). "Horizontal integration and cortical dynamics. [Review] [108 refs]." *Neuron* 9(1): 1-13.

Gilbert, C. D. and T. N. Wiesel (1979). "Morphology and intracortical projections of functionally characterised neurones in the cat visual cortex." *Nature* 280(5718): 120-125.

Gilbert, C. D. and T. N. Wiesel (1983a). "Clustered intrinsic connections in cat visual cortex." *Journal of Neuroscience* 3(5): 1116-1133.

Glover, S., D. A. Rosenbaum, J. Graham and P. Dixon (2004). "Grasping the meaning of words." *Experimental Brain Research* 154(1): 103-108.

Godement, P., J. Vanselow, S. Thanos and F. Bonhoeffer (1987). "A study in developing visual systems with a new method of staining neurones and their processes in fixed tissue." *Development* 101(4): 697-713.

Grafton, S. T., R. P. Woods and J. C. Mazziotta (1993). "Within-arm somatotopy in human motor areas determined by positron emission tomography imaging of cerebral blood flow." *Experimental Brain Research* 95(1): 172-176.

Grammont, F. and A. Riehle (1999). "Precise spike synchronization in monkey motor cortex involved in preparation for movement." *Experimental Brain Research* 128(1-2): 118-122.

Graziano, M. (2006). "The organization of behavioral repertoire in motor cortex. [Review] [136 refs]." *Annual Review of Neuroscience* 29: 105-134.

Graziano, M. S. (2011). "New insights into motor cortex." *Neuron* 71(3): 387-388.

Graziano, M. S. and T. N. Aflalo (2007). "Rethinking cortical organization: moving away from discrete areas arranged in hierarchies." *Neuroscientist* 13(2): 138-147.

Graziano, M. S., C. S. Taylor and T. Moore (2002b). "Complex movements evoked by microstimulation of precentral cortex." *Neuron* 34(5): 841-851.

Graziano, M. S., C. S. Taylor, T. Moore and D. F. Cooke (2002c). "The cortical control of movement revisited. [Review] [106 refs]." *Neuron* 36(3): 349-362.

Grillner, S. (2003). "The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks. [Review] [156 refs]." *Nature Reviews Neuroscience* 4(7): 573-586.

Grillner, S. (2006). "Biological pattern generation: the cellular and computational logic of networks in motion. [Review] [110 refs]." *Neuron* 52(5): 751-766.

Grinvald, A., R. D. Frostig, R. M. Siegel and E. Bartfeld (1991). "High-resolution optical imaging of functional brain architecture in the awake monkey." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88(24): 11559-11563.

Guigon, E., P. Baraduc and M. Desmurget (2007a). "Computational motor control: redundancy and invariance." *Journal of Neurophysiology* 97(1): 331-347.

Guigon, E., P. Baraduc and M. Desmurget (2007b). "Coding of movement- and force-related information in primate primary motor cortex: a computational approach." *European Journal of Neuroscience* 26(1): 250-260.

Haider, B. and E. al. (2012). "Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex." *nature*.

Haider, B., A. Duque, A. R. Hasenstaub and D. A. McCormick (2006). "Neocortical network activity in vivo is generated through a dynamic balance of excitation and inhibition." *Journal of Neuroscience* 26(17): 4535-4545.

Hama, H., H. Kurokawa, H. Kawano, R. Ando, T. Shimogori, H. Noda, K. Fukami, A. Sakaue-Sawano and A. Miyawaki (2011). "Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain." *Nature Neuroscience* 14(11): 1481-1488.

Hammond, G. (2002). "Correlates of human handedness in primary motor cortex: a review and hypothesis." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26(3): 285-292.

Hammond, G., D. Faulkner, M. Byrnes, F. Mastaglia and G. Thickbroom (2004). "Transcranial magnetic stimulation reveals asymmetrical efficacy of intracortical circuits in primary motor cortex." *Experimental Brain Research* 155(1): 19-23.

Hanser, H. and C. Scholtyssek (2000). "Lexikon der Neurowissenschaft."

Hari, R. and S. Salenius (1999). "Rhythmical corticomotor communication. [Review] [83 refs]." *Neuroreport* 10(2): 5.

Harms, K. J., M. S. Rioult-Pedotti, D. R. Carter and A. Dunaevsky (2008). "Transient spine expansion and learning-induced plasticity in layer 1 primary motor cortex." *Journal of Neuroscience* 28(22): 5686-5690.

Harris, K. D. and A. Thiele (2011). "Cortical state and attention. [Review]." *Nature Reviews Neuroscience* 12(9): 509-523.

Hatsopoulos, N. G. (2005). "Encoding in the motor cortex: was evarts right after all? Focus on "motor cortex neural correlates of output kinematics and kinetics during isometric-force and arm-reaching tasks"." *Journal of Neurophysiology* 94(4): 2261-2262.

Hatsopoulos, N. G. (2010). "Columnar organization in the motor cortex." *Cortex* 46(2): 270-271.

Haugland, R. P. H., M. T. Z. Spence, I. Johnson and A. Basey (2010). "Molecular Probes Handbook, A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, 11th Edition " USA, Invitrogen-Corp.

Hayden, B. Y., J. M. Pearson and M. L. Platt (2009). "Fictive reward signals in the anterior cingulate cortex." *Science* 324(5929): 948-950.

Heinzle, J., K. Hepp and K. A. Martin (2007). "A microcircuit model of the frontal eye fields." *Journal of Neuroscience* 27(35): 9341-9353.

Held, R. and A. Hein (1963). "Movement-Produced Stimulation in the Development of Visually Guided Behavior." *Journal of Comparative & Physiological Psychology* 56: 872-876.

Herculano-Houzel, S., C. E. Collins, P. Wong, J. H. Kaas and R. Lent (2008). "The basic nonuniformity of the cerebral cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(34): 12593-12598.

Hlustik, P., A. Solodkin, R. P. Gullapalli, D. C. Noll and S. L. Small (2001). "Somatotopy in human primary motor and somatosensory hand representations revisited." *Cerebral Cortex* 11(4): 312-321.

Hof, P. R., E. A. Nimchinsky and J. H. Morrison (1995). "Neurochemical Phenotype of Corticocortical Connections in the Macaque Monkey - Quantitative-Analysis of A Subset of Neurofilament Protein-Immunoreactive Projection Neurons in Frontal, Parietal, Temporal, and Cingulate Cortices. ." *Journal of Comparative Neurology* 362: 109-133.

Hofmann, M. H. and H. Bleckmann (1999). "Effect of temperature and calcium on transneuronal diffusion of Dil in fixed brain preparations." *Journal of Neuroscience Methods* 88(1): 27-31.

Holmberg, M., D. Gelbart and W. Hemmert (2006). "Automatic Speech Recognition with an Adaptation Model Motivated by Auditory Processing." *Audio, Speech, and Language Processing, IEEE Transactions on* 14(1): 43-49.

Holmqvist, B. I., T. Ostholt and P. Ekstrom (1992). "Dil tracing in combination with immunocytochemistry for analysis of connectivities and chemoarchitectonics of specific neural systems in a teleost, the Atlantic salmon." *Journal of Neuroscience Methods* 42(1-2): 45-63.

Honig, M. G. and R. I. Hume (1986). "Fluorescent carbocyanine dyes allow living neurons of identified origin to be studied in long-term cultures." *Journal of Cell Biology* 103(1): 171-187.

Honig, M. G. and R. I. Hume (1989). "Carbocyanine dyes. Novel markers for labelling neurons." *Trends in Neurosciences* 12(9): 336-338.

Honig, M. G. and R. I. Hume (1989). "Dil and diO: versatile fluorescent dyes for neuronal labelling and pathway tracing. [Review] [33 refs]." *Trends in Neurosciences* 12(9): 333-335.

Hooks, B. M., S. A. Hires, Y. X. Zhang, D. Huber, L. Petreanu, K. Svoboda and G. M. Shepherd (2011). "Laminar analysis of excitatory local circuits in vibrissal motor and sensory cortical areas." *PLoS Biology* 9(1).

Horikawa, K. and E. W. Powell (1986). "Comparison of techniques for retrograde labeling using the rat's facial nucleus." *Journal of Neuroscience Methods* 17(4): 287-296.

Horton, J. C. and D. L. Adams (2005). "The cortical column: a structure without a function. [Review] [220 refs]." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 360(1456): 837-862.

Hubel, D. H. and T. N. Wiesel (1962). "Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex." *Journal of Physiology* 160: 106-154.

Huber, A. (2001). "Weichenstellung, Komplexität und metaphorisches Denken im 21. Jahrhundert." Frankfurt am Main, Wien, Zürich.

Huffman, K. J. and L. Krubitzer (2001). "Area 3a: Topographic organization and cortical connections in marmoset monkeys." *Cerebral Cortex* 11(9): 849-867.

Huisken, J., J. Swoger, F. Del Bene, J. Wittbrodt and E. H. Stelzer (2004). "Optical sectioning deep inside live embryos by selective plane illumination microscopy." *Science* 305(5686): 1007-1009.

Huntley, G. W. and E. G. Jones (1991). "Relationship of intrinsic connections to forelimb movement representations in monkey motor cortex: a correlative anatomic and physiological study." *Journal of Neurophysiology* 66(2): 390-413.

Jackson, J. H. (1873). "On the Anatomical Investigation of Epilepsy and Epileptiform Convulsions." *British Medical Journal* 1(645): 531-533.

Jacobs, K. M. and J. P. Donoghue (1991). "Reshaping the cortical motor map by unmasking latent intracortical connections." *Science* 251(4996): 944-947.

Jenmalm, P., C. Schmitz, H. Forssberg and H. H. Ehrsson (2006). "Lighter or heavier than predicted: neural correlates of corrective mechanisms during erroneously programmed lifts." *Journal of Neuroscience* 26(35): 9015-9021.

Jones, E. G., J. D. Coulter and S. H. Hendry (1978). "Intracortical connectivity of architectonic fields in the somatic sensory, motor and parietal cortex of monkeys." *Journal of Comparative Neurology* 181(2): 291-347.

Jones, E. G. and P. Rakic (2010). "Radial columns in cortical architecture: it is the composition that counts." *Cerebral Cortex* 20(10): 2261-2264.

Jones, E. G. and S. P. Wise (1977). "Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys." *Journal of Comparative Neurology* 175(4): 391-438.

Kaas, J. H. (1991). "Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. [Review] [158 refs]." *Annual Review of Neuroscience* 14: 137-167.

Kakei, S., D. S. Hoffman and P. L. Strick (1999). "Muscle and movement representations in the primary motor cortex." *Science* 285(5436): 2136-2139.

Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessell, Steven A. Siegelbaum, A.J. Hudspeth (2013). "Principles of Neural Science." New York

Eric Kandel, James Schwartz und Thomas Jessell (1996). "Neurowissenschaften Eine Einführung" Heidelberg/Berlin

Keller, A. (1993a). "Intrinsic connections between representation zones in the cat motor cortex." *Neuroreport* 4(5): 515-518.

Keller, A. (1993c). "Intrinsic synaptic organization of the motor cortex." *Cerebral Cortex* 3(5): 430-441.

Keller, A. and H. Asanuma (1993b). "Synaptic relationships involving local axon collaterals of pyramidal neurons in the cat." *Journal of Comparative Neurology* 336(2): 229-242.

Kisvarday, Z. F. (1992). "GABAergic networks of basket cells in the visual cortex. [Review] [67 refs]." *Progress in Brain Research* 90: 385-405.

Kisvarday, Z. F., K. A. Martin, T. F. Freund, Z. Maglóczy, D. Whitteridge and P. Somogyi (1986). "Synaptic targets of HRP-filled layer III pyramidal cells in the cat striate cortex." *Experimental Brain Research* 64(3): 541-552.

Kisvarday, Z. F., E. Toth, M. Rausch and U. T. Eysel (1997). "Orientation-specific relationship between populations of excitatory and inhibitory lateral connections in the visual cortex of the cat." *Cerebral Cortex* 7(7): 605-618.

Kobbert, C., R. Apps, I. Bechmann, J. L. Lanciego, J. Mey and S. Thanos (2000). "Current concepts in neuroanatomical tracing. [Review] [107 refs]." *Progress in Neurobiology* 62(4): 327-351.

Kotter, R. and F. T. Sommer (2000). "Global relationship between anatomical connectivity and activity propagation in the cerebral cortex." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 355(1393): 127-134.

Kotter, R., K. E. Stephan, N. Palomero-Gallagher, S. Geyer, A. Schleicher and K. Zilles (2001). "Multimodal characterisation of cortical areas by multivariate analyses of receptor binding and connectivity data." *Anatomy & Embryology* 204(4): 333-350.

Krassioukov, A. V., M. A. Bygrave, W. R. Puckett, R. P. Bunge and K. A. Rogers (1998). "Human sympathetic preganglionic neurons and motoneurons retrogradely labelled with Dil." *Journal of the Autonomic Nervous System* 70(1-2): 123-128.

Krieger, P., T. Kuner and B. Sakmann (2007). "Synaptic connections between layer 5B pyramidal neurons in mouse somatosensory cortex are independent of apical dendrite bundling." *Journal of Neuroscience* 27(43): 11473-11482.

Krubitzer, L. and D. M. Kahn (2003). "Nature versus nurture revisited: an old idea with a new twist. [Review] [103 refs]." *Progress in Neurobiology* 70(1): 33-52.

Kujirai, T., M. D. Caramia, J. C. Rothwell, B. L. Day, P. D. Thompson, A. Ferbert, S. Wroe, P. Asselman and C. D. Marsden (1993). "Corticocortical inhibition in human motor cortex." *Journal of Physiology* 471: 501-519.

Kurata, K. and J. Tanji (1986). "Premotor cortex neurons in macaques: activity before distal and proximal forelimb movements." *Journal of Neuroscience* 6(2): 403-411.

Kwan, H. C., W. A. MacKay, J. T. Murphy and Y. C. Wong (1978). "Spatial organization of precentral cortex in awake primates. II. Motor outputs." *Journal of Neurophysiology* 41(5): 1120-1131.

Kwan, H. C., J. T. Murphy and Y. C. Wong (1987). "Interaction between neurons in precentral cortical zones controlling different joints." *Brain Research* 400(2): 259-269.

Landgren, S., C. G. Phillips and R. Porter (1962b). "Cortical fields of origin of the monosynaptic pyramidal pathways to some alpha motoneurons of the baboon's hand and forearm." *Journal of Physiology* 161: 112-125.

Landry P, Labelle A and D. M. (1980). "Intracortical distribution of axonal collaterals of pyramidal tract cells in the cat motor cortex." *Brain Research* 191: 327-336.

Lang, G. (2006). "Histotechnik, Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik." Wien.

Lazar, A., G. Pipa and J. Triesch (2007). "Fading memory and time series prediction in recurrent networks with different forms of plasticity." *Neural Networks* 20(3): 312-322.

Lehrer, J. (2010). "The truth wears off. Is there something wrong with the scientific method?" *The New Yorker* 13. Dez. 2010.

Levitt, J. B., D. A. Lewis, T. Yoshioka and J. S. Lund (1993). "Topography of pyramidal neuron intrinsic connections in macaque monkey prefrontal cortex (area-9 and area-46)." *Journal of Comparative Neurology* 338(3): 360-376.

Levitt, J. B. and J. S. Lund (2002). "The spatial extent over which neurons in macaque striate cortex pool visual signals." *Visual Neuroscience* 19(4): 439-452.

Levitt, J. B., T. Yoshioka and J. S. Lund (1994). "Intrinsic cortical connections in macaque visual area V2: evidence for interaction between different functional streams." *Journal of Comparative Neurology* 342(4): 551-570.

Leyton, A. and C. Sherrington (1917). "Observations on the excitable cortex of the chimpanzee, orang-utan and gorilla." *Q J of Exper Physiol* 11: 135-222.

Li, C. and G. Chen (2003). "Stability of a neural network model with small-world connections." *Physical Review E* (Pt 1): 052901, 2003 Nov): Statistical, Nonlinear, & Soft Matter Physics.

Li, N., H. Yang, L. Lu, C. Duan, C. Zhao and H. Zhao (2008). "Comparison of the labeling efficiency of BrdU, Dil and FISH labeling techniques in bone marrow stromal cells." *Brain Research*: 18.

Liu, Z., Y. Li, J. Zhang, S. Elias and M. Chopp (2008). "Evaluation of corticospinal axon loss by fluorescent dye tracing in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis." *Journal of Neuroscience Methods* 167: 191-197.

Lorente de Nó, R. (1949). "Cerebral cortex: Architecture, intracortical connections, motor projections." *Physiology of the Nervous System*: 288-330.

Lotze, M., M. Erb, H. Flor, E. Huelsmann, B. Godde and W. Grodd (2000). "fMRI evaluation of somatotopic representation in human primary motor cortex." *Neuroimage* 11(5 Pt 1): 473-481.

Lübke, J. and K. Albus (1992). "Rapid rearrangement of intrinsic tangential connections in the striate cortex of normal and dark-reared kittens: lack of exuberance beyond the second postnatal week." *Journal of Comparative Neurology* 323(1): 42-58.

Luhmann, H. J., L. Martinez Millan and W. Singer (1986). "Development of horizontal intrinsic connections in cat striate cortex." *Experimental Brain Research* 63(2): 443-448.

Luhmann, H. J., W. Singer and L. Martinez Millan (1990). "Horizontal Interactions in Cat Striate Cortex: I. Anatomical Substrate and Postnatal Development " *European Journal of Neuroscience* 2(4): 344-357.

Lukas, J. R., M. Aigner, M. Denk, H. Heinzl, M. Burian and R. Mayr (1998). "Carbocyanine postmortem neuronal tracing. Influence of different parameters on tracing distance and combination with immunocytochemistry." *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 46(8): 901-910.

Lukashin, A. V., B. R. Amirikian, V. L. Mozhaev, G. L. Wilcox and A. P. Georgopoulos (1996). "Modeling motor cortical operations by an attractor network of stochastic neurons." *Biological Cybernetics* 74(3): 255-261.

Lukashin, A. V. and A. P. Georgopoulos (1993). "A dynamical neural network model for motor cortical activity during movement: population coding of movement trajectories." *Biological Cybernetics* 69(5-6): 517-524.

Lund, J. S. (2002). "Specificity and non-specificity of synaptic connections within mammalian visual cortex. [Review] [49 refs]." *Journal of Neurocytology* 31(3-5): 203-209.

Lund, J. S., T. Yoshioka and J. B. Levitt (1993). "Comparison of intrinsic connectivity in different areas of macaque monkey cerebral cortex." *Cerebral Cortex* 3(2): 148-162.

Maass, W., T. Natschlager and H. Markram (2003). "Real-time computing without stable states: a new framework for neural computation based on perturbations." *Neural Computation* 14(11): 2531-2560.

Malach, R., Y. Amir, M. Harel, A. Grinvald (1993). "Relationship between intrinsic connections and functional architecture revealed by optical imaging and in vivo targeted biocytin injections in primate striate cortex." *Proc.Natl.Acad.Sci.* (90) 10469-10473.

Malach, R. (1994). "Cortical columns as devices for maximizing neuronal diversity. [Review] [23 refs]." *Trends in Neurosciences* 17(3): 101-104.

Markram, H. (2008). "Fixing the location and dimensions of functional neocortical columns." *HFSP Journal* 2(3): 132-135.

Martin, K. A. and D. Whitteridge (1984a). "Form, function and intracortical projections of spiny neurones in the striate visual cortex of the cat." *Journal of Physiology* 353: 463-504.

Matelli, M., R. Camarda, M. Glickstein and G. Rizzolatti (1986). "Afferent and efferent projections of the inferior area 6 in the macaque monkey." *Journal of Comparative Neurology* 251(3): 281-298.

Matelli, M., G. Luppino, L. Fogassi and G. Rizzolatti (1989). "Thalamic input to inferior area 6 and area 4 in the macaque monkey." *Journal of Comparative Neurology* 280(3): 468-488.

Matelli, M., G. Luppino and G. Rizzolatti (1985). "Patterns of cytochrome oxidase activity in the frontal agranular cortex of the macaque monkey." *Behavioural Brain Research* 18(2): 125-136.

Mathias, N. and V. Gopal (2001). "Small worlds: how and why." *Physical Review E* (Pt 1): 021117, 2001 Feb): Statistical, Nonlinear, & Soft Matter Physics.

Matsubayashi, Y., L. Iwai and H. Kawasaki (2008). "Fluorescent double-labeling with carbocyanine neuronal tracing and immunohistochemistry using a cholesterol-specific detergent digitonin." *Journal of Neuroscience Methods* 174(1): 71-81.

Matsumura, M., D. Chen, T. Sawaguchi, K. Kubota and E. E. Fetz (1996). "Synaptic interactions between primate precentral cortex neurons revealed by spike-triggered averaging of intracellular membrane potentials in vivo." *Journal of Neuroscience* 16(23): 7757-7767.

Maturana, H. and F. Varela (1987). "Der Baum der Erkenntnis." München.

Matyas, F., V. Sreenivasan, F. Marbach, C. Wacogne, B. Barsy, C. Mateo, R. Aronoff and C. C. Petersen (2010). "Motor control by sensory cortex." *Science* 330(6008): 1240-1243.

Maynard, E. M., N. G. Hatsopoulos, C. Ojakangas, B. D. Acuna, J. N. Sanes, R. A. Normann and J. P. Donoghue (1999). "Neuronal Interactions Improve Cortical Population Coding of Movement Direction." *Journal of Neuroscience* 19(18): 8083-8093.

Maynard, E. M., N. G. Hatsopoulos, C. L. Ojakangas, B. D. Acuna, J. N. Sanes, R. A. Normann and J. P. Donoghue (1999). "Neuronal interactions improve cortical population coding of movement direction." *Journal of Neuroscience* 19(18): 8083-8093.

McGuire, B. A., C. D. Gilbert, P. K. Rivlin and T. N. Wiesel (1991). "Targets of horizontal connections in macaque primary visual cortex." *Journal of Comparative Neurology* 305(3): 370-392.

Mead, C. (1990). "Neuromorphic electronic systems." *Proc. IEEE* 78: 1629-1636.

Melchitzky, D. S., G. Gonzalez-Burgos, G. Barrionuevo and D. A. Lewis (2001). "Synaptic targets of the intrinsic axon collaterals of supragranular pyramidal neurons in monkey prefrontal cortex." *Journal of Comparative Neurology* 430(2): 209-221.

Meyer, G. (1987). "Forms and spatial arrangement of neurons in the primary motor cortex of man." *Journal of Comparative Neurology* 262(3): 402-428.

Meyer, H. S., Daniel Schwarz, Verena C. Wimmer, Arno C. Schmitt, Jason N. D. Kerr, Bert Sakmann and M. Helmstaedter (2011). "Inhibitory interneurons in a cortical column form hot zones of inhibition in layers 2 and 5A." *PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 16807–16812.

Mitchison, G. (1992). "Axonal trees and cortical architecture. [Review] [30 refs]." *Trends in Neurosciences* 15(4): 122-126.

Monfils, M. H., P. M. VandenBerg, J. A. Kleim and G. C. Teskey (2004). "Long-term potentiation induces expanded movement representations and dendritic hypertrophy in layer V of rat sensorimotor neocortex." *Cerebral Cortex* 14(5): 586-593.

Moran, D. W. and A. B. Schwartz (1999). "Motor cortical representation of speed and direction during reaching." *Journal of Neurophysiology* 82(5): 2676-2692.

Moran, D. W. and A. B. Schwartz (2000). "One motor cortex, two different views. [Review] [19 refs]." *Nature Neuroscience* 3(10): 963-965.

Mountcastle, V. B. (1957b). "Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex." *Journal of Neurophysiology* 20(4): 408-434.

Mountcastle, V. B. (1997). "The columnar organization of the neocortex. [Review] [116 refs]." *Brain* 120(Pt 4): 701-722.

Mountcastle, V. B., P. W. Davies and A. L. Berman (1957a). "Response properties of neurons of cat's somatic sensory cortex to peripheral stimuli." *Journal of Neurophysiology* 20(4): 374-407.

Muir, D. W. and D. E. Mitchell (1975). "Behavioral deficits in cats following early selected visual exposure to contours of a single orientation." *Brain Research* 85(3): 459-477.

Munchau, A., B. R. Bloem, K. Irlbacher, M. R. Trimble and J. C. Rothwell (2002). "Functional connectivity of human premotor and motor cortex explored with repetitive transcranial magnetic stimulation." *Journal of Neuroscience* 22(2): 554-561.

Murphy, J. T., H. C. Kwan, W. A. MacKay and Y. C. Wong (1978). "Spatial organization of precentral cortex in awake primates. III. Input-output coupling." *Journal of Neurophysiology* 41(5): 1132-1139.

Murthy, V. N. and E. E. Fetz (1992). "Coherent 25- to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(12): 5670-5674.

Murthy, V. N. and E. E. Fetz (1996a). "Oscillatory activity in sensorimotor cortex of awake monkeys: synchronization of local field potentials and relation to behavior." *Journal of Neurophysiology* 76(6): 3949-3967.

Murthy, V. N. and E. E. Fetz (1996b). "Synchronization of neurons during local field potential oscillations in sensorimotor cortex of awake monkeys." *Journal of Neurophysiology* 76(6): 3968-3982.

Mussa-Ivaldi, F. A. (1988). "Do neurons in the motor cortex encode movement direction? An alternative hypothesis." *Neuroscience Letters* 91(1): 106-111.

Narayanan, N. S., E. Y. Kimchi and M. Laubach (2005). "Redundancy and synergy of neuronal ensembles in motor cortex." *Journal of Neuroscience* 25(17): 4207-4216.

Naselaris, T., H. Merchant, B. Amirikian and A. P. Georgopoulos (2005). "Spatial reconstruction of trajectories of an array of recording microelectrodes." *Journal of Neurophysiology* 93(4): 2318-2330.

Nelissen, K., E. Borra, M. Gerbella, S. Rozzi, G. Luppino, W. Vanduffel, G. Rizzolatti and G. A. Orban (2011). "Action observation circuits in the macaque monkey cortex." *Journal of Neuroscience* 31(10): 3743-3756.

Nelissen, K., G. Luppino, W. Vanduffel, G. Rizzolatti and G. A. Orban (2005). "Observing Others: Multiple Action Representation in the Frontal Lobe." *Science*: Vol.310(5746), Oct 2005, pp.

Nelson, S. (2002). "Cortical microcircuits: diverse or canonical?" *Neuron* 36(1): 19-27.

Olivier, E., M. Davare, M. Andres and L. Fadiga (2007). "Precision grasping in humans: from motor control to cognition. [Review] [61 refs]." *Current Opinion in Neurobiology* 17(6): 644-648.

Olshausen, B. A. (2010). "20 years of learning about vision: Questions answered, questions unanswered, and questions not yet asked." in: J.M.Bower (Hrsg.), 20 Years of Computational Neurosciences.

Passingham, R. E., K. E. Stephan and R. Kotter (2002). "The anatomical basis of functional localization in the cortex." *Nature Reviews Neuroscience* 3(8): 606-616.

Pearson, J. M., B. Y. Hayden, S. Raghavachari and M. L. Platt (2009). "Neurons in posterior cingulate cortex signal exploratory decisions in a dynamic multioption choice task." *Current Biology* 19(18): 1532-1537.

Penfield, W. and E. Boldrey (1937). "Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation." *Brain: A Journal of Neurology* 60: 389-443.

Penfield, W. and T. Rasmussen (1950). "The cerebral cortex of man; a clinical study of localization of function." 248.

Picard, N. and P. L. Strick (1996). "Motor areas of the medial wall: a review of their location and functional activation. [Review] [110 refs]." *Cerebral Cortex* 6(3): 342-353.

Poirazi, P. and B. W. Mel (2001). "Impact of active dendrites and structural plasticity on the memory capacity of neural tissue." *Neuron* 29: 779-796.

Poliakov, A. V. and M. H. Schieber (1999). "Limited functional grouping of neurons in the motor cortex hand area during individuated finger movements: A cluster analysis." *Journal of Neurophysiology* 82(6): 3488-3505.

Porter, L. L., D. Matin and A. Keller (2000). "Characteristics of GABAergic neurons and their synaptic relationships with intrinsic axons in the cat motor cortex." *Somatosensory and Motor Research* 17(1): 67-80.

Prochazka, A. (1996). "The fuzzy logic of visuomotor control. [Review] [30 refs]." *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology* 74(4): 456-462.

Pucak, M. L., J. B. Levitt, J. S. Lund and D. A. Lewis (1996). "Patterns of intrinsic and associational circuitry in monkey prefrontal cortex." *Journal of Comparative Neurology* 376(4): 614-630.

Purves, D., D. R. Riddle and A. S. LaMantia (1992). "Iterated patterns of brain circuitry (or how the cortex gets its spots). [Review] [103 refs]." *Trends in Neurosciences* 15(10): 362-368.

Rabinovich, M., R. Huerta and G. Laurent (2008). "Neuroscience. Transient dynamics for neural processing." *Science* 321(5885): 48-50.

Rademacher, J. (2002). "Topographical Variability of Cytoarchitectonic Areas." in: Schüz A., Miller R., *Cortical Areas: Unity and Diversity*, Kap. 4, S. 53-78.

Rademacher, J., V. S. Caviness, Jr., H. Steinmetz and A. M. Galaburda (1993). "Topographical variation of the human primary cortices: implications for neuroimaging, brain mapping, and neurobiology." *Cerebral Cortex* 3(4): 313-329.

Rakic, P. (1971). "Guidance of neurons migrating to the fetal monkey neocortex." *Brain Research* 33(2): 471-476.

Rakic, P. (1995a). "Radial versus tangential migration of neuronal clones in the developing cerebral cortex. [Review] [61 refs]." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92(25): 11323-11327.

Rakic, P. (2008). "Confusing cortical columns. [Review] [21 refs][Erratum appears in *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 30;105(39):15220]." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(34): 12099-12100.

Read, H. L., J. A. Winer and C. E. Schreiner (2002). "Functional architecture of auditory cortex. [Review] [115 refs]." *Current Opinion in Neurobiology* 12(4): 433-440.

Rickert, J., A. Riehle, A. Aertsen, S. Rotter and M. P. Nawrot (2009). "Dynamic encoding of movement direction in motor cortical neurons." *Journal of Neuroscience* 29(44): 13870-13882.

Riehle, A., S. Grün, M. Diesmann and A. Aertsen (1997a). "Spike synchronization and rate modulation differentially involved in motor cortical function." *Science: Vol.278(5345)*, Dec 1997, pp.

Riehle, A., S. Kornblum and J. Requin (1997b). "Neuronal correlates of sensorimotor association in stimulus-response compatibility. [References]." *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*: Vol.23(26), Dec 1997, pp.

Rizzolatti, G., L. Fadiga, V. Gallese and L. Fogassi (1996). "Premotor cortex and the recognition of motor actions." *Cognitive Brain Research* 3(2): 131-141.

Rizzolatti, G. and G. Luppino (2001). "The cortical motor system. [Review] [47 refs]." *Neuron* 31(6): 889-901.

Rizzolatti, G., G. Luppino and M. Matelli (1998). "The organization of the cortical motor system: new concepts. [Review] [104 refs]." *Electroencephalography & Clinical Neurophysiology* 106(4): 283-296.

Rockel, A. J., R. W. Hiorns and T. P. Powell (1980). "The basic uniformity in structure of the neocortex." *Brain* 103(2): 221-244.

Rockland, K. S. (2010). "Five points on columns." *Frontiers in Neuroanatomy* 4(22).

Rockland, K. S. and N. Ichinohe (2004). "Some thoughts on cortical minicolumns. [Review] [84 refs]." *Experimental Brain Research* 158(3): 265-277.

Rockland, K. S. and J. S. Lund (1983). "Intrinsic laminar lattice connections in primate visual cortex." *Journal of Comparative Neurology* 216(3): 303-318.

Rockland, K. S., J. S. Lund and A. L. Humphrey (1982). "Anatomical binding of intrinsic connections in striate cortex of tree shrews (*Tupaia glis*)." *Journal of Comparative Neurology* 209(1): 41-58.

Romeis, B. (1989). "Mikroskopische Technik." München.

Roth, G. and U. Dicke (2012). "Evolution of the brain and intelligence in primates. [Review]." *Progress in Brain Research* 195: 413-430.

Rothwell, J. C. (1997). "Techniques and mechanisms of action of transcranial stimulation of the human motor cortex. [Review] [45 refs]." *Journal of Neuroscience Methods* 74(2): 113-122.

Sanes, J. N. and J. P. Donoghue (1997). "Dynamic motor cortical organization." *Neuroscientist* 3(3): 158-165.

Sanes, J. N. and J. P. Donoghue (2000). "Plasticity and primary motor cortex. [Review] [136 refs]." *Annual Review of Neuroscience* 23: 393-415.

Sanes, J. N., J. P. Donoghue, V. Thangaraj, R. R. Edelman and et al. (1995). "Shared neural substrates controlling hand movements in human motor cortex." *Science*: Vol.268(5218), Jun 1995, pp.

Sanes, J. N. and M. H. Schieber (2001). "Orderly somatotopy in primary motor cortex: does it exist?" *Neuroimage* 13(6 Pt 1): 968-974.

Schieber, M. H. (2001). "Constraints on somatotopic organization in the primary motor cortex." *Journal of Neurophysiology* 86(5): 2125-2143.

Schieber, M. H. and L. S. Hibbard (1993). "How somatotopic is the motor cortex hand area?" *Science* 261(5120): 489-492.

Schmidt, K. E., R. Goebel, S. Lowel and W. Singer (1997a). "The perceptual grouping criterion of colinearity is reflected by anisotropies of connections in the primary visual cortex." *European Journal of Neuroscience* 9(5): 1083-1089.

Schmidt, K. E. and Löwel (1997b). "Functional Specificity of Long-Range Intrinsic and Interhemispheric Connections in the Visual Cortex of Strabismic Cats."

Schmidt, K. E., M. Stephan, W. Singer and S. Löwel (2002). "Spatial Analysis of Ocular Dominance Patterns in Monocularly Deprived Cats." *Cerebral Cortex* 12: 783-796.

Schneider, C., H. Devanne, B. A. Lavoie and C. Capaday (2002). "Neural mechanisms involved in the functional linking of motor cortical points." *Experimental Brain Research* 146(1): 86-94.

Schneider, C., D. Zytnicki and C. Capaday (2001). "Quantitative evidence for multiple widespread representations of individual muscles in the cat motor cortex." *Neuroscience Letters* 310(2-3): 183-187.

Schoffelen, J. M., R. Oostenveld and P. Fries (2005). "Neuronal coherence as a mechanism of effective corticospinal interaction." *Science* 308(5718): 111-113.

Schuz, A. and G. Palm (1989). "Density of neurons and synapses in the cerebral cortex of the mouse." *Journal of Comparative Neurology* 286(4): 442-455.

Schwark, H. D. and E. G. Jones (1989). "The distribution of intrinsic cortical axons in area 3b of cat primary somatosensory cortex." *Experimental Brain Research* 78(3): 501-513.

Scott, S. H. (2003). "The role of primary motor cortex in goal-directed movements: insights from neurophysiological studies on non-human primates. [Review] [86 refs]." *Current Opinion in Neurobiology* 13(6): 671-677.

Scott, S. H. (2008). "Inconvenient truths about neural processing in primary motor cortex. [Review] [40 refs]." *Journal of Physiology* 586(5): 1217-1224.

Sergio, L. E., C. Hamel-Paquet and J. F. Kalaska (2005). "Motor cortex neural correlates of output kinematics and kinetics during isometric-force and arm-reaching tasks." *Journal of Neurophysiology* 94(4): 2353-2378.

Shepherd, G. M. H. (2004). "The Synaptic Organization of the Brain." New York.

Sherwood, C. C., R. L. Holloway, J. M. Erwin, A. Schleicher, K. Zilles and P. R. Hof (2004). "Cortical orofacial motor representation in old world monkeys, great apes, and humans: I. Quantitative analysis of cytoarchitecture. [References]." *Brain, Behavior and Evolution*: Vol.63(62), Feb 2004, pp.

Shibata-Iwasaki, R., H. Dekimoto, Y. Katsuyama, S. Kikkawa and T. Terashima (2007). "Anterograde labeling of the corticospinal tract in jimpy mutant mice by Dil injection into the motor cortex." *Archives of Histology and Cytology* 70(5): 297-301.

Sholl, D. A. (1953). "Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat." *Journal of Anatomy* 87(4): 387-406.

Singer, W. (2009). "Distributed processing and temporal codes in neuronal networks." *Cognitive Neurodynamics* 3(3): 189-196.

Smith, A. M., M. C. Hepp-Reymond and U. R. Wyss (1975). "Relation of activity in precentral cortical neurons to force and rate of force change during isometric contractions of finger muscles." *Experimental Brain Research* 23(3): 315-332.

Smith, W. S. and E. E. Fetz (1989). "Effects of synchrony between primate corticomotoneuronal cells on post-spike facilitation of muscles and motor units." *Neuroscience Letters* 96(1): 76-81.

Sporns, O. and G. M. Edelman (1993). "Solving Bernstein's problem: a proposal for the development of coordinated movement by selection." *Child Development* 64(4): 960-981.

Sporns, O. and J. D. Zwi (2004). "The small world of the cerebral cortex. [Review] [50 refs]." *Neuroinformatics* 2(2): 145-162.

Stark, E., R. Drori and M. Abeles (2009). "Motor cortical activity related to movement kinematics exhibits local spatial organization." *Cortex* 45(3): 418-431.

Stelzer, E. H. K. and S. Lindek (1994). "Fundamental reduction of the observation volume in far-field light microscopy by detection orthogonal to the illumination axis: confocal theta microscopy." *Optics Communication* 111: 536-547.

Stephan, K. E., C. C. Hilgetag, G. A. Burns, M. A. O'Neill, M. P. Young and R. Kotter (2000a). "Computational analysis of functional connectivity between areas of primate cerebral cortex." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 355(1393): 111-126.

Stephan, K. E., L. Kamper, A. Bozkurt, G. A. Burns, M. P. Young and R. Kotter (2001). "Advanced database methodology for the Collation of Connectivity data on the Macaque brain (CoCoMac)." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 356(1412): 1159-1186.

Stephan, K. M., F. Binkofski, U. Halsband, C. Dohle, G. Wunderlich, A. Schnitzler, P. Tass, S. Posse, H. Herzog, V. Sturm, K. Zilles, R. J. Seitz and H. J. Freund (1999). "The role of ventral medial wall motor areas in bimanual co-ordination. A combined lesion and activation study." *Brain* 122(Pt 2): 351-368.

Stepniewska, I., P. C. Fang and J. H. Kaas (2005). "Microstimulation reveals specialized subregions for different complex movements in posterior parietal cortex of prosimian galagos."

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(13): 4878-4883.

Stepniewska, I., T. M. Preuss and J. H. Kaas (1993). "Architectonics, somatotopic organization, and ipsilateral cortical connections of the primary motor area (M1) of owl monkeys." *Journal of Comparative Neurology* 330(2): 238-271.

Sussillo, D. and L. F. Abbott (2009). "Generating coherent patterns of activity from chaotic neural networks." *Neuron* 63(4): 544-557.

Swindale, N. V. (1990). "Is the cerebral cortex modular?. [Review] [40 refs]." *Trends in Neurosciences* 13(12): 487-492.

Swindale, N. V., D. Shoham, A. Grinvald, T. Bonhoeffer and M. Hubener (2000). "Visual cortex maps are optimized for uniform coverage." *Nature Neuroscience* 3(8): 822-826.

Tanigawa, H., Q. Wang and I. Fujita (2005). "Organization of horizontal axons in the inferior temporal cortex and primary visual cortex of the macaque monkey." *Cerebral Cortex* 15(12): 1887-1899.

Tanji, J. and K. Shima (1994). "Role for supplementary motor area cells in planning several movements ahead." *Nature* 371(6496): 413-416.

Teskey, G. C., M. H. Monfils, P. M. VandenBerg and J. A. Kleim (2002). "Motor map expansion following repeated cortical and limbic seizures is related to synaptic potentiation." *Cerebral Cortex* 12(1): 98-105.

Thal, D. R., E. Capetillo-Zarate and R. A. Galuske (2008). "Tracing of temporo-entorhinal connections in the human brain: cognitively impaired argyrophilic grain disease cases show dendritic alterations but no axonal disconnection of temporo-entorhinal association neurons." *Acta Neuropathologica* 115: 175-183.

Thanos, S., D. Fischer, M. Pavlidis, P. Heiduschka and N. Bedeutsch (2000). "Gliaanatomy assessed by cell-cell interactions and phagocytotic labelling." *Journal of Neuroscience Methods* 103(1): 39-50.

Ting, L. H. and J. L. McKay (2007). "Neuromechanics of muscle synergies for posture and movement. [Review] [85 refs]." *Current Opinion in Neurobiology* 17(6): 622-628.

Todorov, E. (2000). "Direct cortical control of muscle activation in voluntary arm movements: a model." *Nature Neuroscience* 3(4): 391-398.

Todorov, E. and M. I. Jordan (2002). "Optimal feedback control as a theory of motor coordination." *Nature Neuroscience* 5(11): 1226-1235.

Tokuno, H. and J. Tanji (1993). "Input organization of distal and proximal forelimb areas in the monkey primary motor cortex – A retrograde double-labeling study." *Journal of Comparative Neurology* 333(2): 199-209.

Tomasi, D. and N. D. Volkow (2010). "Functional connectivity density mapping." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(21): 9885-9890.

Tomassini, V., S. Jbabdi, J. C. Klein, T. E. Behrens, C. Pozzilli, P. M. Matthews, M. F. Rushworth and H. Johansen-Berg (2007). "Diffusion-weighted imaging tractography-based parcellation of the human lateral premotor cortex identifies dorsal and ventral subregions with anatomical and functional specializations." *Journal of Neuroscience* 27(38): 10259-10269.

Van Hooser, S. D. (2007). "Similarity and diversity in visual cortex: is there a unifying theory of cortical computation?. [Review] [157 refs]." *Neuroscientist* 13(6): 639-656.

Van Hooser, S. D., J. A. Heimel, S. Chung and S. B. Nelson (2006). "Lack of patchy horizontal connectivity in primary visual cortex of a mammal without orientation maps." *Journal of Neuroscience* 26(29): 7680-7692.

Vercelli, A., M. Repici, D. Garbossa and A. Grimaldi (2000). "Recent techniques for tracing pathways in the central nervous system of developing and adult mammals. [Review] [197 refs]." *Brain Research Bulletin* 51(1): 11-28.

Voges, N., C. Guijarro, A. Aertsen and S. Rotter (2010a). "Models of cortical networks with long-range patchy projections." *Journal of Computational Neuroscience* 28(1): 137-154.

- Voges, N., A. Schuz, A. Aertsen and S. Rotter (2010b). "A modeler's view on the spatial structure of intrinsic horizontal connectivity in the neocortex. [Review]." *Progress in Neurobiology* 92(3): 277-292.
- Von Economo, C. and G. N. Koskinas (1925). "Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen."
- Vorobiev, V., P. Govoni, G. Rizzolatti, M. Matelli and G. Luppino (1998). "Parcellation of human mesial area 6: cytoarchitectonic evidence for three separate areas." *European Journal of Neuroscience* 10(6): 2199-2203.
- Waldrop, M. M. (1996). "Inseln im Chaos. Die Erforschung komplexer Systeme." Reinbek bei Hamburg.
- Wallace, M. N. and S. Bajwa (1991). "Patchy intrinsic connections of the ferret primary auditory cortex." *Neuroreport* 2(8): 417-420.
- Wallace, M. N., L. M. Kitzes and E. G. Jones (1991). "Intrinsic inter- and intralaminar connections and their relationship to the tonotopic map in cat primary auditory cortex." *Experimental Brain Research* 86(3): 527-544.
- Walsh, V. and A. Cowey (2000). "Transcranial magnetic stimulation and cognitive neuroscience. [Review] [95 refs]." *Nature Reviews Neuroscience* 1(1): 73-79.
- Watts, D. J. and S. H. Strogatz (1998a). "Collective dynamics of 'small-world' networks." *Nature* 393(6684): 440-442.
- Weiss, D. S. and A. Keller (1994). "Specific patterns of intrinsic connections between representation zones in the rat motor cortex." *Cerebral Cortex* 4(2): 205-214.
- Wicht, H. (2006). "Der Marionettenspieler im Hintergrund." *Gehirn&Geist* 10.
- Wilkie, D. (1983). "Rayleigh Test for Randomness of Circular Data." *Appl. Statist.* 32(3): 311-312.
- Wilson, S. A., G. W. Thickbroom and F. L. Mastaglia (1993). "Transcranial magnetic stimulation mapping of the motor cortex in normal subjects. The representation of two intrinsic hand muscles." *Journal of the Neurological Sciences* 118(2): 134-144.
- Wise, S. P. and E. G. Jones (1977). "Somatotopic and columnar organization in the corticotectal projection of the rat somatic sensory cortex." *Brain Research* 133(2): 223-235.
- Wong, Y. C., H. C. Kwan, W. A. MacKay and J. T. Murphy (1978). "Spatial organization of precentral cortex in awake primates. I. Somatosensory inputs." *Journal of Neurophysiology* 41(5): 1107-1119.
- Woolsey, C. N., P. H. Settlage, D. R. Meyer, W. Sencer, T. Pinto Hamuy and A. M. Travis (1952). "Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area." *Research Publications Association for Research in Nervous & Mental Disease* 30: 238-264.
- Wu, C. C., R. M. Russell, R. T. Nguyen and H. J. Karten (2003). "Tracing developing pathways in the brain: a comparison of carbocyanine dyes and cholera toxin b subunit." *Neuroscience* 117(4): 831-845.
- Yamashita, A. and T. Arikuni (2001). "Axon trajectories in local circuits of the primary motor cortex in the macaque monkey (*Macaca fuscata*)." *Neuroscience Research* 39(2): 233-245.
- Yen, S. C., J. Baker and C. M. Gray (2007). "Heterogeneity in the responses of adjacent neurons to natural stimuli in cat striate cortex." *Journal of Neurophysiology* 97(2): 1326-1341.
- Yoshioka, T., G. G. Blasdel, J. B. Levitt and J. S. Lund (1996). "Relation between patterns of intrinsic lateral connectivity, ocular dominance, and cytochrome oxidase-reactive regions in macaque monkey striate cortex." *Cerebral Cortex* 6(2): 297-310.
- Yoshioka, T., J. B. Levitt and J. S. Lund (1992). "Intrinsic lattice connections of macaque monkey visual cortical area V4." *Journal of Neuroscience* 12(7): 2785-2802.
- Yu, S., D. Huang, W. Singer and D. Nikolic (2008). "A small world of neuronal synchrony." *Cerebral Cortex* 18(12): 2891-2901.
- Zaitsev, A. V., G. Gonzalez-Burgos, N. V. Povysheva, S. Kroner, D. A. Lewis and L. S. Krimer (2005). "Localization of calcium-binding proteins in physiologically and morphologically

characterized interneurons of monkey dorsolateral prefrontal cortex." *Cerebral Cortex* 15(8): 1178-1186.

Zec, N. and H. C. Kinney (2003). "Anatomic relationships of the human nucleus of the solitary tract in the medulla oblongata: a Dil labeling study." *Autonomic Neuroscience Basic & Clinical* 105(2): 131-144.

Zele, T., J. Sketelj and F. F. Bajrovic (2010). "Efficacy of fluorescent tracers in retrograde labeling of cutaneous afferent neurons in the rat." *Journal of Neuroscience Methods* 191(2): 208-214.

Zentgraf, K. (2003). "Schlaganfall - Bewegt in die Zukunft." Schorndorf, Verlag Karl Hofmann.

Zhang, J., A. Riehle, J. Requin and S. Kornblum (1997). "Dynamics of single neuron activity in monkey primary motor cortex related to sensorimotor transformation." *Journal of Neuroscience* 17(6): 2227-2246.

Zilles, K. (2006). "Architektur und funktionelle Neuroanatomie der Hirnrinde des Menschen." Berlin in: Förstl, Hautzinger, Roth: *Neurobiologie psychischer Störungen*: S. 75-140.

Zilles, K. and K. Amunts (2012). "Neuroscience. Segregation and wiring in the brain." *Science* 335(6076): 1582-1584.

Zilles, K. and G. Rehkämper (1998³). "Funktionelle Neuroanatomie." Springer Berlin u.a.

Zschau, C. (2012). "Vergleichende Studien zu interhemisphärischen zellulären Asymmetrien in sprach-assoziierten Kortexarealen von Primaten." Dissertation TU-Darmstadt.

9. Anhang II

9.1. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Gehirnnareale nach Brodmann (1909).....	12
Abb. 2: Penfields Homunculus.....	13
Abb. 3: Einfaches Motorkortexmodell.	13
Abb. 4: Motorische Areale und ihre Verbindungen	14
Abb. 5: Motorische Areale und ihre Verbindungen (2)	15
Abb. 6: Pyramidale und extrapyramidale Bahn.....	16
Abb. 7: Die Entwicklung der Motorkortexkonzeptionen.....	17
Abb. 8: Die Schichten des primären Motorkortex.....	18
Abb. 9: „Canonical circuit“.....	19
Abb. 10: Somatotope Karte des Motorkortex anhand von intrakortikaler Mikrostimulation	22
Abb. 11: Gehirnstimulationskarten	23
Abb. 12: Bewegungskodierung im Motorkortex	25
Abb. 13: Terminalfelder und Zellverteilung.....	27
Abb. 14: Boutons en passant.....	28
Abb. 15: Die motorischen Areale	31
Abb. 16: Formel von Dil.....	32
Abb. 17: Injektion eines Dil-Kristalls in den Motorkortex.	33
Abb. 18: Motorkortex und gefärbte Gewebe.....	34
Abb. 19: Nissl-Färbung.	36
Abb. 20: Herstellung der Gewebeschnitte	37
Abb. 21: Dil Spektrogramme	39
Abb. 22: Manuelle Messung der Zellabstände am Beispiel der entferntesten Zelle.....	40
Abb. 23: Vergleich von Mikroskopbild und Zeichnung eines Patches	42
Abb. 24: Injektionstiefe	44
Abb. 25: Rekonstruktion der Gewebeschnittzeichnungen für die 3-D-Montage (serial section).	46
Abb. 26: Abweichung der Rekonstruktion vom Gewebe	47
Abb. 27: Verteilung der Zellen in der Kortextiefe.....	50
Abb. 28: Entfernung der Zellen vom Injektionsmittelpunkt - Schollringbreitenwahl.....	51
Abb. 29: Zellverteilung in der Tiefe	52
Abb. 30: Wahl der Rasterung des Zellverteilungsfeldes.....	54
Abb. 31: Bestätigung des primären Motorkortexareals (BA 4) anhand eines Nissl-gefärbten Schnittes.....	57
Abb. 32: Übersicht über eine Dil-Injektionsstelle in einem Gewebeschnitt (P4).	58
Abb. 33: Geweberekonstruktion (P4) anhand der Schnittzeichnungen	59
Abb. 34: Pyramidenzellen.....	60
Abb. 35: Zonen der Zellverteilung	61
Abb. 36: Schollanalyse der Zellverteilung um die Injektionsstelle.	62
Abb. 37: Patch	63
Abb. 38: Patch	64
Abb. 39: Das vertikale Erscheinungsbild des intrinsischen Netzwerkes im primären Motorkortex.	65
Abb. 40: Verteilung der Zellen in der Kortextiefe.....	65
Abb. 41: Schollanalyse der Zellverteilung in den Kortextschichten.....	66
Abb. 42: Schollanalyse der Zellverteilung in den Kortextschichten normiert auf die Schichten	67
Abb. 43: Zellverteilung im Motorkortex in Abhängigkeit von Entfernung und Tiefe.	68
Abb. 44: Schollanalyse der Zellverteilung im Motorkortex normiert auf die Schollringe	69
Abb. 45: Modus, Mittelwert und Median der Zellverteilungen in den Schichten.....	70
Abb. 46 Beispiel einer Schnittzeichnung mit Patches des Gewebes P4.....	72
Abb. 47: Flächenvarianz der Patches innerhalb einer vertikalen Patchesäule im Vergleich	73
Abb. 48: Bild des Auswahlpatches.....	74

Abb. 49: Dendritenfelddurchmesser im primären Motorkortex	76
Abb. 50: Vergleich der Flächen von Patchen und Dendritenfeldern	77
Abb. 51: Rasterung der Zellverteilung	78
Abb. 52: Polarstatistik alle Zellen	79
Abb. 53: : Gruppierung und Richtungsorientierung der Zellverteilung in Schichten I - III	80
Abb. 54: Gruppierung und Richtungsorientierung der Zellverteilung in Schichten IV – VI	81
Abb. 55: Boutonbilder	82
Abb. 56: Boutonbilder	83
Abb. 57: Boutondichte bezogen auf die Entfernung von der Injektionsstelle	84
Abb. 58: Boutondichten in nahen und fernen Bereichen um die Injektionsstelle, Signifikanzprüfung	84
Abb. 59: Vergleich der Boutondichten im Verlauf verschiedener Axone	85
Abb. 60: Darstellung der Boutondichte bezogen auf die Kortextiefe	86
Abb. 61: Signifikanztest I-III gegen IV-VI	86
Abb. 62: Boutonverteilung in den Schichten	87
Abb. 63: Nachweis des prämotorischen Areals	89
Abb. 64: Geweberekonstruktion anhand der Schnittzeichnungen	90
Abb. 65: Übersicht über die Injektionsstelle im prämotorischen Kortex.....	91
Abb. 66: Pyramidenzellen prämotorischer Kortex, Messbalken 100 µm.....	92
Abb. 67: Schollanalysen der Zellverteilung im prämotorischen Kortex und dessen Schichten	93
Abb. 68: Schollanalysen der Zellverteilung in der Tiefe	94
Abb. 69: Schollanalysen der Zellverteilung: Mittelwerte, Mediane und Modi	95
Abb. 70: Ausrichtung und Rasterung der Zellverteilung	96
Abb. 71: Rasterung und Ausrichtung der Zellverteilung in den Schichten.....	97
Abb. 72: Patchzeichnungen prämotorischer Kortex	100
Abb. 73: Dendriten.....	101
Abb. 74: Dendriten.....	102
Abb. 75: Dendritenfelddurchmesser im prämotorischen Kortex.....	103
Abb. 76: Vergleich der Durchmesser von Patch- und Dendritenfeld	104
Abb. 77: Vergleich der Flächen von Patches mit Dendritenfeldern	104
Abb. 78: Boutondichte bezogen auf die Entfernung im.....	105
Abb. 79: Vergleich Boutondichte naher und ferner Bereiche.....	105
Abb. 80: Boutondichte bezogen auf die Tiefe.....	106
Abb. 81: Vergleich Boutondichte in den Schichten.....	106
Abb. 82: Vergleich der Daten von Prä und M1	109
Abb. 83: Der somatosensorische Kortex P4	110
Abb. 84: Injektionsstelle M1-S1 P1	111
Abb. 85: Patches im somatosensorischen Kortex	112
Abb. 86: Somatosensorischer Kortex und entfernteste Zelle	113
Abb. 87: Karten der Terminationsfärbungen	122
Abb. 88: Pyramidenzelle	126
Abb. 89: Zelldichten verschiedener Kortexareale	130
Abb. 90: Funktionskolumnen von Georgopoulos.....	140
Abb. 91: Canonical circuit	145
Abb. 92: Patchzeichnungen (P4)	150
Abb. 93: Räumliches Bild vom Patch-Netzwerk	151
Abb. 94: Raumerfahrungen.....	163
Abb. 95: Afferente (A), efferente (C) und interne Verbindungen der Basalganglien.....	166
Abb. 96: „Pianomodelle“ des Motorkortex.....	167
Abb. 97: Mikroskoparbeitsplätze	173
Abb. 98: Ermittlung der realen Kortextiefe.....	174
Abb. 99: Gewebeeinebnung rechnerisch, Ermittlung der korrigierten X- und Y-Werte.	176
Abb. 100: Gewebeeinebnung rechnerisch (Fortsetzung von Abb.99)	177

Abb. 101: Schollanalysen der Zellverteilung in den Kortexschichten, normiert an allen Zellen.	179
Abb. 102: Schollanalysen der Zellverteilung in den Kortexschichten, normiert an den Schichten.	180
Abb. 103: Schollanalysen der Zellverteilung in den Kortexschichten, normiert auf den Schollringen.	181
Abb. 104: Nachweis des Areals des primären Motorkortex.	182
Abb. 105: Bilderauswahl zweier Patches.	184
Abb. 106: Bild zweier Patches.	185
Abb. 107: Dendritenzeichnungen.	196
Abb. 108: Dendritenfeldzeichnungen.	197
Abb. 109: Funktionaler Fingerabdruck von motorischen Arealen.	201
Abb. 110 Modell Muskelsynergien.	202
Abb. 111: Feedback-Modell von Scott.	203

9.2. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Gewebe.	31
Tab. 2: Abstand der entferntesten Zellen zur Injektionsstelle.	62
Tab. 3: Kenngrößen der Patche im primären Motorkortex.	73
Tab. 4: Patchdurchmesser Übersicht.	74
Tab. 6: Datentabelle der Volumenberechnungen von Patches.	75
Tab. 7: Datentabelle zu den Dendritenverzweigungen.	77
Tab. 8: Kortexschichtendicke.	93
Tab. 9: Patchgrößen im prämotorischen Kortex.	99
Tab. 10: Volumen der Patchgewebesäulen.	99
Tab. 11: Vergleich von primärem Motorkortex und prämotorischem Kortex.	107
Tab. 12: Untersuchung intrinsischer Verbindungen im Motorkortex.	118
Tab. 13: Physiologische Studien zum Motorkortex.	118
Tab. 14: Patches.	124
Tab. 15: Zellzahlen/ $0,1 \text{ mm}^3$ in den Schichten der Areale nach v.Economo/Koskinas (1925).	131
Tab. 16: Zelldichten des visuellen und motorischen Kortexareals verschiedener Spezies.	131
Tab. 17: Reichweiten intrinsischer Verbindungen in den supragranulären Schichten.	132
Tab. 18: Daten zu Patches.	134
Tab. 19: Vergleich der drei Rindentypen des Neokortex.	137
Tab. 20: Sektionsnummern der Gewebe.	167
Tab. 21: Einsatzbedingungen für Dil.	168
Tab. 22: Kortexschichtenbestimmung.	178
Tab. 23: Nachweise der Gewebeareale.	182
Tab. 24: Patchdurchmesser und -fläche.	183
Tab. 25: Varianz der Patchdurchmesser innerhalb einer Patchesäule.	187
Tab. 27: Volumenberechnung anhand von Bildern zweier Patches (P2).	188
Tab. 28: Volumenberechnung des Auswahlpatches (P4).	189
Tab. 29: Zellzahlen in dem Auswahlpatch.	190
Tab. 30: Dendritenvermessungen, Durchmesser, Fläche, Verzweigungen.	191
Tab. 31: Boutondichte in M1 (P4), Daten zu Entfernung von der Injektionsstelle und Kortextiefe.	192
Tab. 32: Boutondichte an "nackten" Axonen im Motorkortex in μm	193

9.3. Abkürzungsverzeichnis

a = anterior	LFP = lokales Feldpotential
A1 = primärer auditorischer Kortex	m = medial
Abb. = Abbildung	MPIH = Max Planck-Institut für Hirnforschung
ASEP = average synchronous excitation potential	MUA+SUA = multi- und single-unit-activity
ASIP = averagesynchronous inhibitory potential	M1 = Primärer Motorkortex
BDA = biotinyliertes Dextranamin	p = posterior
BIC = Bicucullin-Methiodid	PHA-L = Phaseolus vulgaris leucoagglutinin
CO = Zytochromoxidase	PA = Paraformaldehyd
d = dorsal	PET = Positronen-Emissions-Tomografie
Dil = Dioktadezyltetramethylindo-carbozyanin Perchlorat	Prä = prämotorischer Kortex
DMSO = Dimethylsulfoxid	s. = siehe
DY = diamidino-yellow (Farbstoff)	S1 = primärer somatosensorischer Kortex
EM = Elektronenmikroskop	STA = spike-triggered averaging (of intracellular potentials)
EMG = Elektromyograph	STP = superior temporal polysensory region
FB = Fast Blue (Farbstoff)	SUA = single-unit-activity
fMRT/fMRI = funktionelle Magnet-Resonanz-Tomografie	Tab. = Tabelle
HRP = horse-radish-peroxidase(Farbstoff)	TE = inferior temporal cortex
ICMS = intrakortikale Mikrostimulation	TMS = transkraniale Magnetstimulation
Kap. = Kapitel	TPOr = temporal parietal occipital rostral (Teil von STP)
l = lateral	V = visueller Kortex (mit Arealnummer)
	v = ventral

9.4. Digitaler Anhang II (CD) (in der Onlineversion nicht enthalten)

Datentabellen zu den ausgewerteten Gewebeschnitten

Gewebe P4: Koordinaten der Zellmarker

Gewebe P8: Koordinaten der Zellmarker

Gewebe P8: Koordinaten der Boutonmarker

Bilder von Patches der Gewebe P4

Bilder von Patches der Gewebe P8

Raumbilder zu den Zeichnungen (Movies)

10. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Onlineversion aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Danksagungen

Ohne ihn wäre alles nicht:

Prof. Dr. Dr. h.c.mult. Wolf Singer gab mir während meines Sabbatjahres im Schuljahr 2000/01 die Möglichkeit am Max-Planck-Institut für Hirnforschung (MPIH) bei allen Versuchen als Gast teilnehmen zu dürfen und anschließend als „freier Nischen-Mitarbeiter“ Mikroskop und Infrastruktur des Instituts bis heute zu nutzen. Das war einmalig und nicht selbstverständlich, war aber auch Ausgangspunkt für viele Kontakte, die ich zwischen Schulklassen, Biologielehrergruppen, Referendaren (Examensarbeit) und Biologiefachleuten auf Besuchen und Seminaren mit und in dem MPIH organisierte und die Prof. Singer als Referent und Berater aktiv unterstützte. Danke.

Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht erstellt worden:

Prof. Dr. Ralf W.A. Galuske hat mich am Ende des Sabbatjahres am MPIH durch seine Begeisterung zu dieser anatomischen Arbeit (ganz vorsichtig) verführt, mir nach meinem Schulleben auch an der TU Darmstadt einen Arbeitsplatz und angemessene Ausrüstung zur Verfügung gestellt und mich vielfältig durch seine Anregungen und Ermutigungen zu dieser Leistung angespornt. Ohne es zu wissen, erfüllte er damit meinen an Herrn Prof. Singer ursprünglich herangetragenen Wunsch nach einem „Praktikum“. Nicht vergessen werde ich den mich motivierenden Satz beim gemeinsamen Patchstudium am Mikroskop: „Klaus, das hat noch nie jemand gesehen!“. Danke.

Ohne sie gäbe es keine klaren Ergebnisse:

Ein besonderer Dank gilt Petra Janson, Sandra Schwegmann, Evi Scheibinger und Kirsten Wehner für ihre exzellente labortechnische Assistenz in Beratung, Anleitung (wenn ich die Methoden praktisch kennenlernen wollte) und Ausführung der von mir in Auftrag gegebenen Arbeiten im MPIH und an der TU Darmstadt. Kirsten Wehner war mir in den Engpässen in der Schlussphase bei der vollständigen Datenerfassung eine große Hilfe.

Das wissenschaftlich-soziale Netz:

Ohne die Einbettung in die unterstützende „AG Galuske“ wäre vermutlich auch vieles anders verlaufen. Nicole Jähner hat mich kuldig und hilfsbereit an der TU, dem Fachbereich und in die Neurolucidawelt eingeführt, war immer mit Rat und Tat zur Seite und ließ keine Frage von mir unbeantwortet. Sie steht für das produktive, unterstützende Arbeitsklima der Gruppe mit Christine Zschau (bes. die Patchwelt), Sebastian Vögler und Fabian Hoffmann (zu ihnen konnte ich mit allem kommen), Katharina Schmitz (bes. Dank für die Einführung in die „small-world“-Welt, den Matlabsupport, die Lektorenhilfe und ihr Interesse), Arne Seehaus (bes. Dank für gemeinsamen Kolumnendiskussionen), Miriam Müller (Matlabsupport), Anna Nagel (Lektorin), Will Barnes und Dr. Oriana Chirry-Weber, die alle Schwierigkeiten solidarisch meisterten und mein wissenschaftliches Umfeld aufmerksam und anregend prägten. Mit ihnen konnten alle Themen und Probleme, ob Patche, Kolumnen oder „small-world“-Netzwerke, MatlabFragen oder Computer-Schwierigkeiten diskutiert werden. Die Hilfe war inclusive. Hier ist auch Linda Wiesinger, Sekretärin von Prof.

Galuske, zu erwähnen, die durch ihre Loyalität, Kompetenz und ihr Organisationsgeschick manche Klippe zu überwinden half.

Dr. Axel Kohler danke ich vielmals für die mathematische Entwicklungshilfe und die Erstellung der Matlab-Programme nach meinen Wünschen. Die in gastfreundschaftlicher Atmosphäre in Frankfurt, Bern und Münster geführten fachkundigen Gespräche über Physiologie, Philosophie und Psychologie der Neurowissenschaften waren äußerst inspirierend. Die Kooperation war umfassend, denn er war auch kompetenter Berater und Mitgestalter der Wissenschaftstage an meiner Schule, der Ernst-Reuter-Schule I in Frankfurt am Main.

Dr. Thomas Wunderle danke ich für seine Unterstützung bei Bildbearbeitung und Animationen, Bayram Çucu für seine Hilfe bei den Randabstandsmessungen für die rechnerische Kortexeinebnung.

Tanja Piatkowski hat sich meiner Probleme einer 3-D-Darstellung angenommen und von einem Patch Bilder mit einem Konfokalmikroskop erstellt, was ich überhaupt nicht selbstverständlich fand. Danke.

Nicht vergessen werde ich auch Dipl.-Bibl. Elisabeth Krawczyk (MPIH) und danke ihr für ihre engagierte und äußerst fachkundige bibliothekarische Unterstützung, die keinen Wunsch offen ließ, sowie Prof. Dr. Hansjürgen Bratzke, Leiter des Institut für Rechtsmedizin am Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, für die Vermittlung des Gewebematerials.

Last but not least: Dank an meine Familie, an Philipp für die Disziplin und Konsequenz auf seinem Weg und sein bewußtes, bescheidenes, gleichwohl genußvolles Leben; an Daniel für seine Aufmunterungen und praktischen Präsentationstipps, seine Einführung in das Programm „Illustrator“ und sein geschicktes Händchen (an seinem Arbeitscomputer) bei der Überwindung grafischer Gestaltungsschwierigkeiten; an meine Frau Gudrun, die mir in allen Phasen eine treue, aufmerksame, kritische und liebevolle Wegbegleiterin war.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Sämtliche aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommene Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und noch nicht veröffentlicht.

Ffm., 31.1.2013